



**Renata Alexandra
Tavares Amaral**

**Avaliação da conservação após abertura de
condimentos e aditivos, utilizados em processados
de carne**



**Renata Alexandra
Tavares Amaral**

**Avaliação da conservação após abertura de
condimentos e aditivos, utilizados em processados
de carne**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia, ramo Alimentar, realizada sob a orientação científica da Professora Doutora Ivonne Delgadillo, Professora Associada com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e da Engenheira Margarida Carmo, Diretora do Departamento de Qualidade da empresa Irmãos Monteiro, S.A.

“The important thing is not to stop questioning. Curiosity has its own reason for existing (...). Never lose a holy curiosity.”

Albert Einstein

o júri

presidente

Professor Doutor José António Teixeira Lopes da Silva
professor auxiliar da Universidade de Aveiro

arguente

Doutor Jorge Manuel Alexandre Saraiva
investigador auxiliar da Universidade de Aveiro

orientador

Professora Doutora Ivonne Delgadillo Giraldo
professora associada com agregação da Universidade de Aveiro

agradecimentos

Chegado ao final de mais uma etapa da minha vida, não poderia deixar de agradecer a quem de alguma forma contribuiu para que tal acontecesse.

À Professora Ivonne, orientadora deste trabalho, por todo o apoio e disponibilidade prestada, por todo o conhecimento transmitido e por toda a ajuda na realização deste estágio.

À empresa Irmãos Monteiro, S.A. por me ter aceite para a realização do estágio, em especial à Engenheira Margarida Carmo por me ter recebido e orientado, mostrando sempre disponibilidade para ajudar em qualquer situação. À Engenheira Daniela Marques por toda a ajuda prestada, ao Engenheiro Daniel Gomes por todo o conhecimento transmitido e a todos os outros colaboradores da empresa que de alguma forma contribuíram para concretização deste trabalho.

À Diana Castro, minha colega de estágio, por toda a ajuda e companhia durante esta importante etapa das nossas vidas.

Aos meus amigos, por estarem presentes em todas as ocasiões, por me ouvirem, ajudarem e por me proporcionarem momentos de descontração e refúgio da rotina diária. São preciosos na minha vida, obrigada por fazerem parte dela.

Ao meu namorado, Bruno, pelo o apoio diário, pelas palavras reconfortantes nos momentos mais difíceis e pela força para continuar sempre a dar o meu melhor.

À minha família, pais e irmão, a quem tudo devo. Obrigada por todos os valores e ensinamentos que me transmitiram, por todas as críticas construtivas, por me apoiarem a perseguir os meus sonhos e por me incentivarem a ser melhor e a dar o meu melhor. Continuarei a lutar para ser o vosso orgulho, acho que é a melhor maneira de demonstrar o meu agradecimento.

À minha avó Maria...

A todos o meu obrigada!

palavras-chave

Conservação, condimentos e especiarias, aditivos alimentares, deterioração, desenvolvimento de novos produtos, IFS Food.

resumo

O presente trabalho descreve as atividades desenvolvidas durante o estágio curricular efetuado na empresa Irmãos Monteiro, S.A., no âmbito do mestrado em Biotecnologia Alimentar.

A deterioração dos alimentos ao longo do tempo pode atribuir-se a causas e parâmetros diversos, desde deterioração microbiológica, química e física. Por esta razão é importante e necessário determinar o seu tempo de prateleira. A empresa Irmãos Monteiro, S.A. possui condimentos e aditivos que, por serem pouco utilizados, estão muito tempo com embalagem aberta, questionando-se assim a sua preservação ao longo do tempo. Por este motivo, surgiu a necessidade de avaliar a conservação destes produtos.

Num estudo de conservação de alimentos é necessário monitorizar as condições a que estes são sujeitos. Fatores como a humidade e a temperatura são bastante importantes visto que têm grande impacto na preservação dos alimentos, sendo frequentemente associados às modificações que neles ocorrem. Foi assim estudada a humidade relativa e a temperatura da sala de armazenamento dos produtos, onde se verificou que a humidade, na maioria do tempo, oscilou entre 60 a 80% e que a temperatura atingiu valores de 23,9 °C. Conclui-se que as condições não foram as ideais, tendo em conta uma referência de humidade relativa inferior a 60% e temperatura inferior a 20 °C.

Usualmente para avaliar a conservação dos produtos são efetuados estudos microbiológicos, químicos, físicos e sensoriais de maneira a avaliar os fatores que levam à deterioração do mesmo. Deste modo, para este trabalho foram efetuados estudos de pH, atividade de água, cor, microbiologia, análise sensorial e de determinação da quantidade de ácido ascórbico, atividade antioxidante e atividade antimicrobiana, dependendo do produto, ao longo de aproximadamente 150 dias. Concluiu-se que apesar das condições não ideais em que os produtos são armazenados, a maioria é pouco afetada ao longo do estudo, visto apresentarem conformidade microbiológica e reduzidas diferenças de cor. No entanto, é de salientar que os produtos mais suscetíveis foram o ascorbato de sódio, visto ser bastante higroscópico e apresentar redução do seu conteúdo de ácido ascórbico e redução de atividade antioxidante e o Mix de mortadela, tendo perdido conformidade microbiológica aos 153 dias de estudo.

Além deste estudo efetuado ao longo do estágio, foi possível participar no desenvolvimento de dois produtos curados, o salame e o chorizo picante, e na implementação da norma IFS Food.

keywords

Preservation, spices and flavourings, food additives, deterioration, new product development, IFS Food.

abstract

The present thesis describes the work carried out during the internship at Irmãos Monteiro, S.A., in the aim of my Master's Degree in Food Biotechnology.

Deterioration of food along storage can be attributed to different causes and parameters, from microbiological to chemical, as well physical deterioration. For this reason, it is important and necessary to determine shelf life. The company Irmãos Monteiro, S.A. has spices and additives that, by being underused, remain open for a long period of time, thus questioning its preservation over time. For this reason, there is the need to study its conservation time.

In a study of food preservation, it is necessary to monitor the conditions to which they are subject. Humidity and temperature are parameters quite important, since they play a major role on food stability, and are often associated with the changes that occur. Taking this into account, it was analyzed the relative humidity and temperature of the warehouse where the spices were stored, being verified that humidity, most of the time, was between 60 and 80%, and that temperature reached 23,9 °C. It is concluded that these conditions were not ideal, given a reference of less than 60% of relative humidity and a temperature below 20 °C.

As aforesaid, the microbiological, chemical, physical and sensorial attributes are important parameters to be evaluated in food preservation studies. Consequently, for this work, studies of pH, water activity, color, microbiology, sensorial analysis, determination of ascorbic acid, antioxidant activity and antimicrobial activity (depending on the product type) were carried out along approximately 150 days. It was concluded that, despite the non-ideal storage conditions, most of the products were largely unaffected through the study since they are microbiologically safe and presented reduced color differences. However, it should be noted that the products most susceptible were sodium ascorbate, since it is very hygroscopic and presents a reduction of ascorbic acid content and antioxidant activity and mortadella mix, that lost microbiological compliance at the 153th day of study.

In addition to this study conducted along the internship, it was possible to actively participate in the development of two cured products, salami and spicy chorizo, and in the implementation of the IFS Food standard.

Abreviaturas

ALST – Do inglês, *accelerated shelf life testing*

a_w – Atividade de água

APCER – Associação Portuguesa de Certificação

BI – Índice de acastanhamento, do inglês *Browning Index*

CE – Comissão Europeia

CIE – Comissão Internacional da Iluminação, do francês *Commission Internationale de L'éclairage*

CESAM – Centro de Estudos do Ambiente e do Mar

DCIP – 2,6-diclorofenolindofenol

DPPH – 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo

FAO – Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (do inglês, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*)

FT – Ficha técnica

GDL – Glucono-delta-lactona

HACCP – Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos, do inglês *Hazard Analysis and Critical Control Point*

HORECA – Hotéis, Restaurantes e Cafés

IFS – Do inglês, *International Featured Standards*

IFST – Do inglês, *Institute of Food Science and Technology*

IPMA – Instituto Português do Mar e Atmosfera

ISO – Organização internacional de normalização (do inglês, *International Organization for Standardization*)

ROS – Espécies reativas de oxigénio (do inglês, *reactive oxygen species*)

Índice

Abreviaturas	XV
Índice	XVII
Índice de figuras e tabelas	XIX
Introdução.....	1
1. Âmbito do estágio.....	1
1.1. Apresentação da empresa	2
I – Revisão bibliográfica	3
Avaliação da conservação de condimentos e aditivos	5
1. Tempo de prateleira.....	5
1.1. Tipos de deterioração	6
1.1.1. Deterioração física	6
1.1.2. Deterioração química	7
1.1.3. Deterioração microbiológica.....	8
1.2. Fatores de deterioração.....	9
1.2.1. Temperatura	9
1.2.2. pH	10
1.2.3. Atividade de água (a_w)	11
1.2.4. Exposição ao oxigénio e à luz.....	14
1.3. Estudos de tempo de prateleira.....	14
1.3.1. Método direto.....	14
1.3.2. Métodos indiretos	16
2. Condimentos e especiarias.....	17
2.1. Propriedades antioxidantes e efeito na oxidação lipídica	18
2.2. Propriedades antimicrobianas.....	20
2.3. Pimenta preta.....	20
2.4. Piripiri e o género Capsicum	21
2.5. Salsa	23
2.6. Deterioração expectável	24
3. Aditivos alimentares	27
3.1. Classe de aditivos.....	27
3.1.1. Ácido ascórbico e ascorbato de sódio	29
3.1.2. Metabissulfito de sódio	30
3.1.3. Glutamato monossódico.....	30
3.1.4. Ácido cítrico	31
3.1.5. Difosfatos.....	31
3.2. Deterioração expectável	31

Desenvolvimento de novos produtos curados	33
1. Ingredientes utilizados	35
2. Processo de fabrico	38
International Featured Standards – IFS Food	41
II – Trabalho desenvolvido.....	5
Avaliação da conservação de condimentos e aditivos	45
1. Produtos em estudo.....	45
2. Plano de trabalho	47
2.1. Avaliação das condições de armazenamento	49
2.2. Avaliação do pH e da atividade da água	49
2.3. Determinação do ácido ascórbico.....	50
2.4. Determinação da atividade antioxidante	50
2.5. Determinação da atividade antimicrobiana	51
2.6. Avaliação microbiológica	52
2.7. Avaliação de cor e organolética	52
2.8. Análise estatística.....	54
3. Resultados e discussão.....	54
3.1. Condições de armazenamento	54
3.2. Produtos	56
3.2.1. Mix para afiabrados	56
3.2.2. Mix de mortadela	61
3.2.3. Mistura de ervas.....	65
3.2.4. Mix extensor	69
3.2.5. Ascorbato de sódio.....	73
3.2.6. Metabissulfito de sódio	77
3.2.7. Piripiri	80
3.2.8. Pimenta preta	84
4. Conclusão	88
Desenvolvimento de novos produtos curados	91
International Featured Standards – IFS Food	101
III – Referências	105
IV – ANEXOS.....	107
ANEXO I – Ficha de prova de análise sensorial de teste de comparação simples	119
ANEXO II –Humidade e temperatura exteriores vs. interiores	121
ANEXO III – Critérios microbiológicos de especiarias	125
ANEXO IV – Resultados de colorimetria – L*a*b* e BI	127
ANEXO V – Fichas de prova do desenvolvimento de novos produtos	139

Índice de figuras e tabelas

Figura 1 – Deterioração em função de atividade da água. Adaptado de (Belitz, Schieberle e Grosch, 2009).	13
Figura 2 – Diagrama esquemático da extrapolação de dados nos testes acelerados de tempo de prateleira. Adaptado de (Man, 2004).	16
Figura 3 – Efeito das culturas starter, baseado nas suas propriedades metabólicas, no produto final. Adaptado de (Toldrá, 2002).	36
Figura 4 – Esquema dos estudos efetuados a cada um dos produtos.	48
Figura 5 – Humidade relativa mínima e máxima de cada dia, ao longo do tempo de estudo, na sala de armazenamento dos produtos estudados.	55
Figura 6 – Temperatura mínima e máxima de cada dia, ao longo do tempo de estudo, na sala de armazenamento dos produtos estudados.	55
Figura 7 – Mix para afiambrados.	56
Figura 8 – Atividade de água do produto Mix para afiambrados, ao longo do tempo, com a corresponde média de humidade das 12h anteriores à recolha. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	57
Figura 9 – Valores de pH, ao longo do tempo, do produto Mix para afiambrados. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	58
Figura 10 – Resultados microbiológicos, ao longo do tempo, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2) para o produto Mix para afiambrados relativamente a bolores e leveduras, microrganismos a 30°C e enterobactérias. Resultados de $1,00 \log_{10} \text{ ufc/g}$ deverão ser considerados $< 1,00 \log_{10} \text{ ufc/g}$.	59
Figura 11 – Resultados microbiológicos, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2), do produto Mix para afiambrados relativos a microrganismos patogénicos. Resultados de $1,00 \log_{10} \text{ ufc/g}$ deverão ser considerados $< 1,00 \log_{10} \text{ ufc/g}$.	59
Figura 12 – Evolução da quantidade de ácido ascórbico (g) em 100g do produto Mix para afiambrados, ao longo do tempo. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	60
Figura 13 – Diferença total de cor, ao longo do tempo, do produto Mix para afiambrados. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	61
Figura 14 – Mix de mortadela	61
Figura 15 – Atividade de água do produto Mix de mortadela, ao longo do tempo, com a corresponde média de humidade das 12h anteriores à recolha. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	61
Figura 16 – Valores de pH, ao longo do tempo, do produto Mix de mortadela. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	62
Figura 17 – Resultados microbiológicos, ao longo do tempo, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2) para o produto Mix de mortadela relativamente a bolores e leveduras, microrganismos a 30°C e enterobactérias. Resultados de $1,00 \log_{10} \text{ ufc/g}$ deverão ser considerados $< 1,00 \log_{10} \text{ ufc/g}$.	63
Figura 18 – Resultados microbiológicos, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2), do produto Mix de mortadela relativos a microrganismos patogénicos. Resultados de $1,00 \log_{10} \text{ ufc/g}$ deverão ser considerados $< 1,00 \log_{10} \text{ ufc/g}$.	64
Figura 19 – Diferença total de cor, ao longo do tempo, do produto Mix de mortadela. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	65
Figura 20 – Atividade de água do produto Mistura de ervas, ao longo do tempo, com a corresponde média de humidade das 12h anteriores à recolha. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	65
Figura 21 – Valores de pH, ao longo do tempo, do produto Mistura de ervas. Diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	66
Figura 22 – Resultados microbiológicos, ao longo do tempo, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2) para o produto Mistura de ervas relativamente a bolores e leveduras, microrganismos a 30°C e enterobactérias. Resultados de $1,00 \log_{10} \text{ ufc/g}$ deverão ser considerados $< 1,00 \log_{10} \text{ ufc/g}$.	67
Figura 23 – Resultados microbiológicos, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2), do produto Mistura de ervas relativos a microrganismos patogénicos. Resultados de $1,00 \log_{10} \text{ ufc/g}$ deverão ser considerados $< 1,00 \log_{10} \text{ ufc/g}$.	68
Figura 24 – Mistura de ervas.	68
Figura 25 – Diferença total de cor, ao longo do tempo, do produto Mistura de ervas. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	68

Figura 26 – Número de respostas certas e erradas no geral e para amostras que eram iguais ou diferentes relativas ao produto Mistura de ervas.....	69
Figura 27 – Atividade de água do produto Mix extensor, ao longo do tempo, com a corresponde média de humidade das 12h anteriores à recolha. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$)...	70
Figura 28 – Valores de pH, ao longo do tempo, do produto Mix extensor. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).....	70
Figura 29 – Resultados microbiológicos, ao longo do tempo, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2) para o produto Mix extensor relativamente a bolores e leveduras, microrganismos a 30°C e enterobactérias. Resultados de $1,00 \log_{10}$ ufc/g deverão ser considerados $<1,00 \log_{10}$ ufc/g.	71
Figura 30 – Resultados microbiológicos, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2), do produto Mix extensor relativos a microrganismos patogénicos. Resultados de $1,00 \log_{10}$ ufc/g deverão ser considerados $<1,00 \log_{10}$ ufc/g.	72
Figura 31 – Mix extensor.	72
Figura 32 – Diferença total de cor, ao longo do tempo, do produto Mix extensor. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	73
Figura 33 – Atividade de água do produto ascorbato de sódio ao longo do tempo, com a corresponde média de humidade das 12h anteriores à recolha. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	73
Figura 34 – Valores de pH, ao longo do tempo, do produto ascorbato de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).....	74
Figura 35 – Evolução da quantidade de ácido ascórbico (g) em 100g do produto ascorbato de sódio, ao longo do tempo. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	75
Figura 36 – Percentagem de DPPH restante para as diferentes concentrações de ascorbato de sódio, ao longo do tempo. Resultados com a indicação de * são estatisticamente diferentes do respetivo controlo.	75
Figura 37 – Diferença total de cor, ao longo do tempo, do produto ascorbato de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	76
Figura 38 – Ascorbato de sódio no início (A) e no fim do estudo (B).....	76
Figura 39 – Índice de acastanhamento, ao longo do tempo, do ascorbato de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	77
Figura 40 – Atividade de água do produto metabissulfito de sódio ao longo do tempo, com a corresponde média de humidade das 12h anteriores à recolha. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	77
Figura 41 – Metabissulfito de sódio	78
Figura 42 – Valores de pH, ao longo do tempo, do produto metabissulfito de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	78
Figura 43 – Zona de inibição (mm) do metabissulfito de sódio, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2), pelo método das 4 placas na incubação com <i>Bacillus subtilis</i> a pH 6.	79
Figura 44 – Diferença total de cor, ao longo do tempo, do produto metabissulfito de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	79
Figura 45 – Atividade de água do produto piripiri ao longo do tempo, com a corresponde média de humidade das 12h anteriores à recolha. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).....	80
Figura 46 – Piripiri	80
Figura 47 – Valores de pH, ao longo do tempo, do produto piripiri. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).....	81
Figura 48 – Resultados microbiológicos, ao longo do tempo, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2) para o produto piripiri relativamente a bolores e leveduras, microrganismos a 30°C e enterobactérias. Resultados de $1,00 \log_{10}$ ufc/g deverão ser considerados $<1,00 \log_{10}$ ufc/g.	82
Figura 49 – Resultados microbiológicos, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2), do produto piripiri relativos a microrganismos patogénicos. Resultados de $1,00 \log_{10}$ ufc/g deverão ser considerados $<1,00 \log_{10}$ ufc/g.....	82
Figura 50 – Diferença total de cor, ao longo do tempo, do produto piripiri. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).....	83
Figura 51 – Número de respostas certas e erradas no geral e para amostras que eram iguais ou diferentes relativas ao produto piripiri.	83
Figura 52 – Atividade de água do produto pimenta preta ao longo do tempo, com a corresponde média de humidade das 12h anteriores à recolha. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$)... ..	84
Figura 53 – Pimenta preta.....	84

Figura 54 – Valores de pH, ao longo do tempo, do produto pimenta preta. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	85
Figura 55 – Resultados microbiológicos, ao longo do tempo, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2) para o produto pimenta preta relativamente a bolores e leveduras, microrganismos a 30°C e enterobactérias. Resultados de $1,00 \log_{10}$ ufc/g deverão ser considerados $< 1,00 \log_{10}$ ufc/g.	86
Figura 56 – Resultados microbiológicos, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2), do produto pimenta preta relativos a microrganismos patogénicos. Resultados de $1,00 \log_{10}$ ufc/g deverão ser considerados $< 1,00 \log_{10}$ ufc/g.	86
Figura 57 – Diferença total de cor, ao longo do tempo, do produto pimenta preta. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	87
Figura 58 – Número de respostas certas e erradas no geral e para amostras que eram iguais ou diferentes relativas ao produto pimenta preta.	87
Figura 59 – Primeiro salame nas diferentes fases de produção. A – após enchimento; B – após fase de fermentação; C – produto final.	93
Figura 60 – Chorizo picante durante as diferentes fases de fabrico. A – após o enchimento; B e C – quando desenvolveu bolores na superfície; D – no final do processo.	95
Figura 61 – Salame 2 nas diferentes fases de fabrico. A – após enchimento; B – durante a maturação; C – produto final.	96
Figura 62 – Média dos resultados da análise sensorial afetiva numa escala de 1 a 5, sendo 1-detesto e 5-gosto muito, para o produto chorizo picante.	97
Figura 63 – Média dos resultados da análise sensorial afetiva numa escala de 1 a 5, sendo 1-detesto e 5-gosto muito, para o produto salame.	98
Figura 64 – Resultados relativos à análise descritiva efetuada para o chorizo picante expresso pela média dos valores obtidos.	98
Figura 65 – Resultados relativos à análise descritiva efetuada para o salame expresso pela média dos valores obtidos.	99
Figura 66 – Excerto da base de dados relativo ao produto pipiriri.	102
Figura 67 – Registo de materiais quebradiços na sala de produção de banha.	103
Figura 68 – Exemplo de ficha de prova fornecido ao painel de provadores no teste de comparação simples.	119
Figura 69 – Temperatura máxima e mínima da sala de armazenamento e temperatura média do exterior, ao longo do tempo de estudo.	121
Figura 70 – Humidade mínima da sala de armazenamento e humidade mínima do exterior, ao longo do tempo de estudo.	123
Figura 71 – Humidade máxima da sala de armazenamento e humidade máxima do exterior, ao longo do tempo de estudo.	124
Figura 72 – Evolução do parâmetro L^* ao longo do tempo, para o produto Mix para afiambrados. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	127
Figura 73 – Evolução do parâmetro a^* ao longo do tempo, para o produto Mix para afiambrados. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	127
Figura 74 – Evolução do parâmetro b^* ao longo do tempo, para o produto Mix para afiambrados. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	128
Figura 75 – Evolução do parâmetro BI ao longo do tempo, para o produto Mix para afiambrados. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	128
Figura 76 – Evolução do parâmetro L^* ao longo do tempo, para o produto Mix de mortadela. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	128
Figura 77 – Evolução do parâmetro a^* ao longo do tempo, para o produto Mix de mortadela. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	129
Figura 78 – Evolução do parâmetro b^* ao longo do tempo, para o produto Mix de mortadela. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	129
Figura 79 – Evolução do parâmetro BI ao longo do tempo, para o produto Mix de mortadela. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	129
Figura 80 – Evolução do parâmetro L^* ao longo do tempo, para o produto Mistura de ervas. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	130
Figura 81 – Evolução do parâmetro a^* ao longo do tempo, para o produto ;istura de ervas. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	130
Figura 82 – Evolução do parâmetro b^* ao longo do tempo, para o produto Mistura de ervas. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).	130

Figura 83 – Evolução do parâmetro BI ao longo do tempo, para o produto Mistura de ervas. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	131
Figura 84 – Evolução do parâmetro L* ao longo do tempo, para o produto Mix extensor. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	131
Figura 85 – Evolução do parâmetro a* ao longo do tempo, para o produto Mix extensor. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	131
Figura 86 – Evolução do parâmetro b* ao longo do tempo, para o produto Mix extensor. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	132
Figura 87 – Evolução do parâmetro BI ao longo do tempo, para o produto Mix extensor. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	132
Figura 88 – Evolução do parâmetro L* ao longo do tempo, para o produto ascorbato de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	132
Figura 89 – Evolução do parâmetro a* ao longo do tempo, para o produto ascorbato de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	133
Figura 90 – Evolução do parâmetro b* ao longo do tempo, para o produto ascorbato de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	133
Figura 91 – Evolução do parâmetro L* ao longo do tempo, para o produto metabissulfito de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	133
Figura 92 – Evolução do parâmetro a* ao longo do tempo, para o produto metabissulfito de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	134
Figura 93 – Evolução do parâmetro b* ao longo do tempo, para o produto metabissulfito de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	134
Figura 94 – Evolução do parâmetro BI ao longo do tempo, para o produto metabissulfito de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	134
Figura 95 – Evolução do parâmetro L* ao longo do tempo, para o produto piripiri. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	135
Figura 96 – Evolução do parâmetro a* ao longo do tempo, para o produto piripiri. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	135
Figura 97 – Evolução do parâmetro b* ao longo do tempo, para o produto piripiri. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	135
Figura 98 – Evolução do parâmetro BI ao longo do tempo, para o produto piripiri. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	136
Figura 99 – Evolução do parâmetro L* ao longo do tempo, para o produto pimenta preta. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	136
Figura 100 – Evolução do parâmetro a* ao longo do tempo, para o produto pimenta preta. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	136
Figura 101 – Evolução do parâmetro b* ao longo do tempo, para o produto pimenta preta. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	137
Figura 102 – Evolução do parâmetro BI ao longo do tempo, para o produto pimenta preta. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p<0,05$).	137

Tabela 1 – Classes de microrganismos agrupados consoante a sua temperatura ótima de crescimento. Adaptado de (Ross e Nichols, 2014).	9
Tabela 2 – Exemplos de valores de pH para diferentes microrganismos. Adaptado de (Coton e Leguerinel, 2014).	10
Tabela 3 – Atividade de água usual de alguns alimentos. Adaptado de (Ross e Nichols, 2014).	12
Tabela 4 – Valores de atividade de água mínima para o crescimento de certos microrganismos. Adaptado de (Prabhakar e Mallika, 2014).	13
Tabela 5 – Classes de especiarias. Adaptado de (Embuscado, 2015; Farkas e Farkas-Mohácsi, 2014).	18
Tabela 6 – Composição nutricional generalizada da pimenta preta. Adaptado de (Zachariah e Parthasarathy, 2008).	21
Tabela 7 – Composição nutricional usual da paprika e do chilli. Adaptado de (Zachariah e Gobinath, 2008).	22
Tabela 8 – Composição nutricional generalizada da salsa. Adaptado de (Azeez e Parthasarathy, 2008).	23
Tabela 9 – Exemplos de aditivos usados em processados de carne. Adaptado de (Parlamento Europeu, 2016).	28
Tabela 10 – Categorias de novos produtos. Adaptado de (Earle, Earle e Anderson, 2001).	33
Tabela 11 – Tempos de abertura média para cada produto, assim como o respetivo prazo de validade indicado pelo fornecedor.	47
Tabela 12 – Datas de início e fim dos estudos para cada produto assim com o tempo total do estudo.	47
Tabela 13 – Percentagens das soluções de cada produto para a avaliação do pH.	49
Tabela 14 – Microrganismos inoculados e respetivos pHs do meio na qual a solução de metabissulfito foi administrada.	52
Tabela 15 – Tempos de abertura que as amostras controlo e as amostras em estudo tinham à data da análise sensorial.	54
Tabela 16 – Processo de fabrico e condições de fabrico do primeiro salame.	92
Tabela 17 – Valores de pH e temperatura do salame nas diferentes fases de fabrico do primeiro salame	92
Tabela 18 – Processo de fabrico e condições de fabrico do chorizo picante.	94
Tabela 19 – Valores de pH e temperatura do chorizo picante nas diferentes fases de fabrico.	94
Tabela 20 – Processo de fabrico e condições de fabrico do segundo salame	95
Tabela 21 – Valores de pH e temperatura do salame nas diferentes fases de fabrico do segundo salame	96
Tabela 22 – Critérios microbiológicos segundo a recomendação da comissão europeia e outra bibliografia existente.	125

Introdução

1. Âmbito do estágio

A empresa Irmãos Monteiro, S.A. propôs a avaliação do tempo de prateleira após abertura dos ingredientes secos por eles utilizados como matéria-prima. Na elaboração de preparados de carne, pré-cozinhados e salsicharia a empresa utiliza variadas especiarias, condimentos e aditivos alimentares. No entanto, estes produtos são utilizados em poucas quantidades ficando as suas embalagens muito tempo abertas, podendo isto eventualmente pôr em causa a sua estabilidade. Deste modo, o objetivo primordial deste estudo foi verificar em que medida o produto conserva as suas características originais durante o tempo de prateleira declarado na embalagem, depois de esta estar aberta. Além disso, também foram avaliadas as condições da sala na qual estes produtos são armazenados. Devido à extensa panóplia de produtos que a empresa possui e na impossibilidade de estudar todos, foram escolhidos oito produtos incluindo especiarias, aditivos e *mix* dos mesmos.

Relativamente às especiarias, foram escolhidas o piripiri e a pimenta. De condimentos foram escolhidos a *Mistura de ervas* (cenoura, cebola, aipo, alho-porro, salsa) e o *Mix de mortadela* (especiarias, dextrose, monoglutamato de sódio). Ao nível de aditivos, foram escolhidos o metabissulfito de sódio, ascorbato de sódio e um *Mix para afiambros* (difosfatos, dextrose, ácido ascórbico, ascorbato de sódio, sal, ácido cítrico, especiarias e aromas). Por último, foi escolhido o *Mix extensor*, produto que é adicionado aos alimentos como extensor (glúten de trigo, farinha de soja, proteína de soja isolada, farinha de trigo, farinha de arroz).

Assim os objetivos deste estágio foram:

- Avaliar a conservação de 8 produtos após abertura, ao longo do tempo, realizando alguns ensaios químicos, microbiológicos e sensoriais;
- Efetuar o levantamento de todos os ingredientes secos, sistematização das suas características através da consulta da sua ficha técnica e análise das condições de armazenamento dos mesmos;
- Conhecer todos os processos produtivos existentes na empresa, por forma a adquirir um conhecimento geral da realidade da empresa;
- Participar em atividades da empresa.

Em relação ao último ponto, surgiu a oportunidade de colaborar no desenvolvimento de dois novos produtos, salame e *chorizo* picante, assim como colaborar na implementação da norma IFS Food.

1.1.Apresentação da empresa

A empresa Irmãos Monteiro, S.A. remonta ao ano 1975 com a criação de um pequeno talho. Quarenta anos depois é uma das maiores empresas alimentares portuguesas. A sua atividade centra-se na transformação e na comercialização de produtos cárnicos (frescos e congelados), preparados de carne, pré-cozinhados, salsicharia tradicional portuguesa e na comercialização de refeições prontas. Está vocacionada para trabalhar com os mercados do canal HORECA (Hotéis, Restaurantes e Cafés), do retalho, da grande distribuição e instituições sociais públicas e privadas.

É certificada pela APCER (Associação Portuguesa de Certificação) ao nível do sistema de gestão, seguindo a norma ISO 9001:2008, a nível ambiental, seguindo a norma ISO 14001:2012 e ao nível de segurança alimentar com o HACCP (Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos, do inglês *Hazard Analysis and Critical Control Point*) implementado de acordo com o *Codex Alimentarius*.

I – Revisão bibliográfica

Avaliação da conservação de condimentos e aditivos

1. Tempo de prateleira

Os alimentos, como produtos biológicos, deterioram-se ao longo do tempo. A deterioração poderá ser devida a diversos fatores, que levam a que o produto não esteja apto para consumo ou não seja mais aceite pelo consumidor. O tipo de deterioração mais perigoso é o microbiológico, em que o alimento se torna um problema de segurança alimentar podendo causar doença ou morte. No entanto, outros tipos de deterioração poderão ocorrer, ao nível da cor, do sabor, do aroma e da textura. Por último, poderá haver deterioração ao nível nutricional, havendo perdas de nutrientes, como por exemplo de vitaminas (Singh e Anderson, 2004).

O tempo que o alimento demora a atingir um dos tipos de deterioração supracitados define o seu tempo de prateleira (Singh e Anderson, 2004). De acordo com a definição pelo IFST (do inglês, *Institute of Food Science and Technology*) o tempo de prateleira é o período de tempo no qual o produto alimentar permanece seguro, mantém as características sensoriais, químicas, físicas e microbiológicas e que está de acordo com a sua declaração nutricional, quando é armazenado nas condições recomendadas (Rogers, 2010). Em relação ao caso particular deste trabalho, o estudo efetuado foi um estudo de conservação após abertura dos condimentos e aditivos. Como não foi encontrada literatura específica, foram usados como referencial os conceitos aplicados aos estudos de tempo de prateleira, no pressuposto de que o armazenamento era feito nas melhores condições possíveis.

Segundo a legislação europeia (diretiva 2000/13/CE) o tempo de prateleira tem que ser indicado no rótulo do produto alimentar como:

- Consumir de preferência antes de: indica a data de durabilidade mínima, ou seja, a data até à qual o produto conserva as suas propriedades nas condições de conservação adequadas.
- Consumir até: no caso de géneros alimentícios microbiologicamente muito perecíveis e que rapidamente podem constituir um perigo imediato à saúde humana indica-se a data limite de consumo (Parlamento Europeu, 2000).

1.1. Tipos de deterioração

Existem três grandes tipos de deterioração alimentar: física, química e microbiológica. Normalmente estas categorias estão relacionadas, sendo que um tipo de deterioração pode levar ao aparecimento de outro (Singh e Anderson, 2004).

1.1.1. Deterioração física

O primeiro tipo de deterioração que pode ocorrer deve-se à instabilidade física. Alguns exemplos são: frutas e vegetais “pisados” ou partidos, alimentos quebradiços como as batatas fritas e os cereais, quebra devido à desidratação, etc. Caso o dano físico seja extenso o produto pode ser rejeitado pelo consumidor. Além do problema direto a que deterioração física leva, pode haver consequências a partir desta, por exemplo, devido à ruptura celular, normalmente há perda do conteúdo aquoso, o que pode levar à perda de cor, acastanhamento enzimático e a um crescimento microbiano mais rápido (Singh e Anderson, 2004).

A humidade é uma das frequentes causas associadas às modificações físicas observadas nos alimentos, quer por ganho de água, perda ou migração. Só por si a humidade pode originar um produto inaceitável, no entanto, este fator frequentemente leva a problemas adicionais, como microbianos e químicos (Singh e Anderson, 2004).

Outra causa da deterioração física é a temperatura. Esta tem grande impacto na qualidade de frutos e vegetais frescos, tendo efeito não só no seu amadurecimento, como também na sua suscetibilidade ao frio (dano nas partes que ficam parcialmente congeladas). Além disso, temperaturas de congelação poderão originar crescimento de cristais de gelo alterando a textura do alimento. Outro exemplo de deterioração são as mudanças na temperatura da transição vítrea, afetando a mobilidade da humidade no alimento, tornando o seu estado vítreo ou quebradiço em estado de borracha e macio. Por exemplo, os produtos de pastelaria que normalmente são húmidos e macios tendem a perder humidade, o que fará com que a temperatura do estado vítreo suba e o alimento torna-se vítreo, duro e quebradiço. Outro efeito da transição vítrea é a aglomeração de pós secos, isto porque, devido ao ganho de humidade o pó passa de estado vítreo a um estado amorfo que faz com que haja aglomeração (Singh e Anderson, 2004).

Por fim, a cristalização de açúcares e a quebra de emulsões (em maionese, margarina e molhos) são outros exemplos de deterioração física que podem ocorrer nos alimentos (Singh e Anderson, 2004).

1.1.2. Deterioração química

A deterioração química observada nos alimentos é resultante de reações ou quebra dos seus componentes químicos, como proteínas, lípidos e hidratos de carbono e afetam a cor, sabor aroma e/ou textura dos mesmos. Estas reações químicas dependem de muitos fatores, tais como: atividade de água (a_w), temperatura, pH e a exposição à luz ou oxigénio (Singh e Anderson, 2004).

A degradação proteica, uma das reações químicas deteriorantes, pode envolver a reação de proteínas entre si ou com outros ingredientes ou então atividade enzimática. Alguns exemplos são: a ação de degradação da plasmina nos produtos lácteos; de proteases que atacam as proteínas da carne, tornando-a mole; oxidação proteica por exposição da mioglobina ao oxigénio, alterando a cor da carne, etc. A ação das enzimas poderá também levar ao acastanhamento enzimático. O exemplo mais conhecido é o do acastanhamento da fruta, que quando exposta ao oxigénio fica castanha por ação da polifenoloxidase (Singh e Anderson, 2004).

Outras reações de deterioração química são as reações de *Maillard* (acastanhamento não enzimático), as quais ocorrem entre os grupos amino das proteínas e açúcares redutores. Estas causam o escurecimento da cor e por vezes alterações de textura. Além disso estão associadas à perda do valor nutricional do alimento. Outro tipo de deterioração de hidratos de carbono é a retrogradação do amido e também a caramelização de açúcares. No entanto, a última apenas ocorre a temperaturas muito altas, cenário que raramente acontece durante a distribuição e armazenamento do produto alimentício (Singh e Anderson, 2004).

Por último, existe a deterioração lipídica que pode ser oxidativa ou hidrolítica, reações químicas estas que podem ter também origem enzimática. A primeira é o modo mais importante de degradação de gorduras e óleos, e afeta diversos produtos como, alimentos fritos, frutas e carnes desidratadas, leite em pó, café, margarina, etc. Este tipo de reação leva a modificações na cor, criação de *off-flavours* e por vezes substâncias tóxicas. O grande fator que proporciona esta deterioração é o oxigénio, que ataca os lípidos insaturados. No entanto, também a luz e o calor são importantes catalisadores desta reação. A rancidez hidrolítica

envolve a quebra de ácidos gordos livres dos triglicéridos na presença de água ou então por ação de enzimas lipolíticas. Os ácidos gordos livres libertados têm normalmente sabores e odores rançosos mesmo em pequenas concentrações (Singh e Anderson, 2004).

1.1.3. Deterioração microbiológica

A deterioração microbiológica, como anteriormente referido, é o pior tipo de deterioração que pode ocorrer num alimento pois pode causar doença no consumidor. Este tipo de degradação é a maior preocupação nos alimentos perecíveis, como frutas e vegetais frescos, carne, peixe, leite, produtos de panificação, sumos, etc. Os microrganismos que infetam os alimentos são bactérias, fungos (bolores e leveduras), vírus e parasitas. No entanto, nem todos os microrganismos presentes nos produtos alimentícios são prejudiciais e indesejados, alguns são essenciais à criação de produtos fermentados como o queijo, cerveja, vinho, etc. (Singh e Anderson, 2004).

À semelhança dos tipos de deterioração anteriormente abordados, também a deterioração microbiológica está dependente de diversos fatores. Os mais importantes são a atividade de água, o pH, a temperatura, a disponibilidade de oxigénio e o conteúdo nutricional do alimento. São importantes porque cada microrganismo tem condições ótimas de crescimento e, consoante o ambiente que existe no alimento, irá haver crescimento de diferentes microrganismos. A atividade de água é um dos fatores mais importantes no crescimento microbiano, isto porque alimentos com maior atividade de água serão mais suscetíveis de deterioração por microrganismos. O pH é outro importante fator que modela significativamente o tipo de microrganismos que cresce em determinado produto, sendo que, o pH próximo de 7 é o que leva ao crescimento da maior parte dos microrganismos. A temperatura afeta também a deterioração microbiana, pois dependendo da temperatura do alimento pode haver aumento, diminuição ou paragem do crescimento microbiano ou até morte dos microrganismos. Dependendo do tipo de atmosfera a que o nosso produto está exposto, nomeadamente à presença ou não de oxigénio, haverá diferentes microrganismos a crescer, pois existem microrganismos aeróbios e anaeróbios, facultativos ou não. Por último, o conteúdo nutricional do alimento é importante pois os microrganismos podem utilizar esses compostos como fontes de carbono e azoto, água e certos minerais para crescer (Singh e Anderson, 2004).

1.2.Fatores de deterioração

Como referido anteriormente, existem diversos fatores que afetam deterioração dos alimentos. Estes podem ser intrínsecos como o pH, a atividade de água e a presença de nutrientes e químicos no alimento, ou podem ser extrínsecos como a temperatura e a exposição à luz e/ou oxigénio. Todos estes fatores são influenciados pelo processamento, embalamento e as condições de armazenamento (Rogers, 2010; Singh e Anderson, 2004).

1.2.1. Temperatura

A temperatura é dos fatores mais importantes que afeta o tempo de prateleira dos alimentos (Kong e Singh, 2016). O controlo da temperatura é dos métodos mais usados para manipular o conteúdo microbiano dos produtos alimentares. Controlando a temperatura podemos inibir o crescimento de microrganismos deteriorantes e patogénicos ou então otimizar o crescimento de outros microrganismos com interesse para o produto final (fermentações) (Ross e Nichols, 2014).

Existem quatro classes de microrganismos de acordo com as temperaturas ótimas de crescimento, como pode ser observado na Tabela 1 (Ross e Nichols, 2014).

Tabela 1 – Classes de microrganismos agrupados consoante a sua temperatura ótima de crescimento. Adaptado de (Ross e Nichols, 2014).

Classe	Temperatura ótima
Psicrófilos	< 15 °C
Psicotróficos	25 °C a 30 °C
Mesófilos	35 °C a 45 °C
Termófilos	> 45 °C

Embora os microrganismos tenham-se adaptado a crescer em diferentes intervalos de temperatura é possível aferir que as temperaturas de crescimento mais comuns das bactérias são entre 35 °C e 40 °C e de 25 °C a 30 °C para os fungos (Ross e Nichols, 2014). A partir dos 60 °C alguns microrganismos começam a morrer, sendo que, quanto maior for a temperatura mais rápido eles morrem (Singh e Anderson, 2004).

Além da influência na flora microbiana, aumentar a temperatura normalmente leva ao aumento de reações químicas havendo uma deterioração mais rápida (Kong e Singh,

2016). Além disso, como referido anteriormente, também tem bastante impacto na deterioração física dos alimentos (Singh e Anderson, 2004).

1.2.2. pH

O pH corresponde aos iões de hidrogénio (ou protões) presentes num sistema. Relaciona-se com a concentração de ácidos presentes numa solução e mede-se numa escala de 1 a 14. O pH 7 é o pH neutro, valores abaixo disso são considerados pH ácidos e acima são considerados pH básicos. Quase todos os alimentos apresentam pH ácido. Dentro destes, o ponto de referência é o pH de 4,6, separando os produtos alimentares muito ácidos dos pouco ácidos. A razão deste valor deve-se ao *Clostridium botulinum* que é uma das grandes preocupações da indústria alimentar, sendo o pH mínimo ao qual este microrganismo tem capacidade de crescer. pH abaixo de 4,6 normalmente significa que haverá pouco crescimento de bactérias patogénicas. Os bolores e leveduras são mais tolerantes a ambientes ácidos tendo capacidade para crescer a pH inferiores (Coton e Leguerinel, 2014).

Verifica-se que o pH tem muita influência nos microrganismos, nomeadamente no seu crescimento, sobrevivência, esporulação e germinação. Deste modo, o pH afeta a conservação dos alimentos e a sua segurança microbiológica. Cada microrganismo tem uma gama de pH no qual consegue crescer, por exemplo, as bactérias gram-positivas crescem entre 4,5 e 9,0, as gram-negativas entre 4,0 e 8,5. Consoante a gama de pH a que as bactérias crescem podem ser denominadas de acidófilas, neutrófilas ou alcalófilas. As leveduras e os bolores têm gamas de crescimento maiores, nomeadamente entre 2,5 e 8,5 e entre 1,5 e 9,5 respetivamente. Na Tabela 2 é possível observar as gamas de pH a que certos microrganismos têm capacidade de se desenvolver (Coton e Leguerinel, 2014).

Tabela 2 – Exemplos de valores de pH para diferentes microrganismos. Adaptado de (Coton e Leguerinel, 2014).

Microrganismo	Mínimo	Ótimo	Máximo
Procariotas			
<i>Bacillus cereus</i>	4,9	6,0-7,0	8,8
<i>Campylobacter</i> spp.	4,9	6,5-7,5	9,0
<i>Clostridium botulinum</i>	4,6		8,5
<i>Clostridium perfringens</i>	5,5-5,8	7,2	8,0-9,0
<i>Escherichia coli</i>	4,4	6,0-7,0	9,0
<i>Lactobacillus</i> spp.	3,8	5,5-6,5	8,0
<i>Listeria monocytogenes</i>	4,4	7,0	9,4

<i>Salmonella</i> spp.	4,2	7,0-7,5	9,5
<i>Shigella</i> spp.	4,9		9,3
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,0	6,0-7,0	10,0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4,8	7,8-8,6	11,0
<i>Vibrio vulnificus</i>	5,0	7,8	10,2
<i>Yersinia enterocolitica</i>	4,2	7,2	9,6
Eucariotas			
<i>Aspergillus flavus</i>	2,1	7,5	11,2
<i>Penicillium roqueforti</i>	3,0	6,0	10,0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,6-2,0	4,0	8,6

Além de ter efeito a nível microbiológico, o pH tem também influência nas reações químicas. Relativamente à reação de *Maillard*, pH alto normalmente aumenta esta reação (Singh e Anderson, 2004). Além disso, o pH tem grande influência na solubilidade e funcionalidade das proteínas e, por isso, a atividade enzimática pode ser bastante afetada, sendo que valores extremos de pH podem levar à perda de atividade destas. Deste modo, tanto o acastanhamento enzimático como a rancidez hidrolítica podem ser afetadas (Kong e Singh, 2016).

1.2.3. Atividade de água (a_w)

A atividade de água é um parâmetro termodinâmico que mede a quantidade de água que está livre, ou seja, que não está ligada a moléculas e que pode reagir e interagir com solutos e moléculas (Prabhakar e Mallika, 2014). A a_w de uma solução é dada pela seguinte equação:

$$a_w = \frac{p}{p_0}$$

Em que p é a pressão de vapor da solução e p_0 é a pressão de vapor de água pura nas mesmas condições. O valor de atividade de água na forma de percentagem corresponde à humidade relativa em equilíbrio (Ross e Nichols, 2014). Este parâmetro é indicador do potencial que certo produto tem para interações químicas e é bastante utilizado como indicador de estabilidade de alimentos porque se relaciona com o crescimento microbiano (microrganismos necessitam de água disponível para crescer) e com a taxa de reações químicas. Deste modo, pode-se utilizar a atividade de água para se prever a estabilidade de

um alimento durante determinado período de tempo sob certas condições de armazenamento. Os valores de a_w variam de 0 a 1, sendo 1 o valor para água pura (Prabhakar e Mallika, 2014). Na Tabela 3 é possível observar a atividade de água típica de alguns alimentos.

Tabela 3 – Atividade de água usual de alguns alimentos. Adaptado de (Ross e Nichols, 2014).

Género alimentício	A_w típica
Leite, fruta, vegetais	0,995-0,998
Carne fresca, peixe	0,990-0,995
Carne cozinhada, salmão fumado	0,965-0,980
Queijo fresco	0,95
Pão	0,90-0,95
Salame (seco)	0,85-0,90
Bolos de fruta, molho soja	0,80
Peixe de salga, mel	0,75
Fruta desidratada	0,60-0,75
Cereais, manteiga de amendoim	0,70-0,80
Massa seca, especiarias	0,20-0,60
Alimentos liofilizados	0,10-0,25

Qualquer organismo necessita de água e os microrganismos não são exceção. A maior parte está ativo apenas num pequeno intervalo de a_w e alterações neste parâmetro na ordem das centésimas pode ter grande efeito. As bactérias gram-negativas necessitam de valores de a_w acima de 0,95, já as gram-positivas conseguem crescer a partir de 0,90, sendo algumas capazes de suportar 0,80 e as que estão adaptadas a ambientes hipersalinos sobrevivem a a_w de 0,75. Os fungos são mais resistentes que as bactérias, sendo que alguns bolores e leveduras conseguem suportar a_w de 0,60. Estes estão normalmente associados a produtos de baixa atividade de água como o pão, queijo, doce, xaropes. A tolerância à atividade de água é maior quando todas as outras condições são ótimas para o crescimento microbiano mas, quando estas começam a ser menos favoráveis o intervalo de a_w que o microrganismo consegue suportar diminui (Ross e Nichols, 2014). Na Tabela 4 é possível observar os valores mínimos de atividade de água necessários para o crescimento de certos microrganismos.

Tabela 4 – Valores de atividade de água mínima para o crescimento de certos microrganismos. Adaptado de (Prabhakar e Mallika, 2014).

Microrganismo	A _w mínima
<i>Escherichia coli</i>	0,99
<i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Shigella</i> spp.	0,97
<i>Bacillus cereus</i> , <i>Clostridium perfringens</i>	0,96
<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Salmonella</i> spp.	0,95
<i>Lactobacillus</i> spp.	0,90
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,86
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,83
Bactérias halófilas	0,75
Leveduras	0,86-0,93
Bolores	0,60-0,88

Na Figura 1 é possível observar a influência de atividade de água nos processos deteriorantes dos alimentos (Belitz, Schieberle e Grosch, 2009).

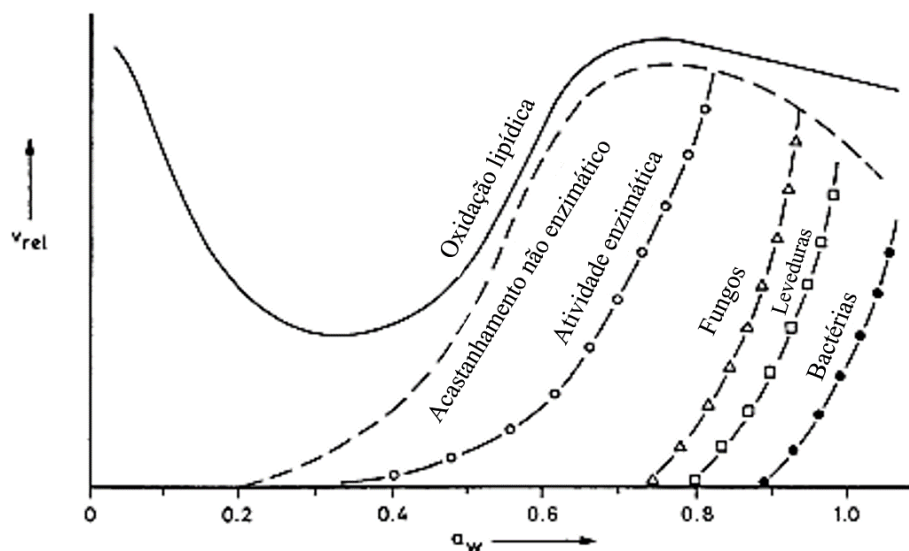


Figura 1 – Deterioração em função de atividade da água. Adaptado de (Belitz, Schieberle e Grosch, 2009).

Verifica-se que baixa atividade de água retarda o crescimento microbiano, decresce as reações enzimáticas e as reações de Maillard. Por outro lado, baixas atividades de água aumentam as reações de oxidação lipídica (Belitz, Schieberle e Grosch, 2009; Singh e Anderson, 2004).

Os alimentos tendem a equilibrar com a humidade relativa existente no ambiente em que são armazenados. Assim, alimentos desidratados tendem a absorver água de ambientes húmidos. A modelação da atividade de água num alimento pode ser uma maneira de reduzir o crescimento microbiano e pode ser conseguido, por exemplo, desidratando ou congelando os alimentos ou adicionando solutos (como sal ou açúcar) (Prabhakar e Mallika, 2014; Ross e Nichols, 2014).

1.2.4. Exposição ao oxigénio e à luz

Tanto a luz como o oxigénio, como anteriormente referido, podem levar à deterioração dos alimentos. Ambos têm a capacidade de provocar e acelerar o processo de oxidação lipídica levando a desenvolvimento de *off-flavours* e sabor a ranço. Além disso, o oxigénio tem influência ao nível microbiano, pois permite o crescimento de bactérias aeróbias e de fungos e a sua ausência permite o crescimento de bactérias anaeróbias (Kong e Singh, 2016).

Apesar de ser um fator deteriorante é necessário, por vezes, que o oxigénio esteja presente para manter algumas qualidades dos produtos, como por exemplo, manter a cor vermelha da carne (Kong e Singh, 2016).

1.3. Estudos de tempo de prateleira

Existem várias maneiras de determinar o tempo de prateleira de um alimento, quer por método direto quer por métodos indiretos.

1.3.1. Método direto

O método mais utilizado é o método direto, o qual implica o armazenamento do produto em estudo, nas condições desejadas, durante determinado período de tempo sendo regularmente analisado para se observar o momento em que começa a deterioração (Man, 2004; New Zealand Food Safety Authority, 2005). Há vários passos a ter em conta para implementar este método:

i. Identificar o que poderá causar deterioração do produto

Cada produto tem o seu próprio conjunto de fatores que limitarão o seu tempo de prateleira e que terão de ser tidos em conta para o estudo do seu tempo de vida. É preciso ter em conta os fatores de todo o processo e também, se se aplicar, a altura do ano (o verão leva a deterioração mais rápida de certos produtos devido às temperaturas mais elevadas).

ii. Escolher quais testes utilizar

Tendo em conta os fatores que afetarão o produto em estudo é necessário escolher os testes que vão ser utilizados para os avaliar. Usualmente são feitos testes sensoriais, microbiológicos, químicos e físicos.

iii. Planear o estudo de tempo de prateleira

Após escolher os testes que serão feitos é necessário definir quanto tempo será o estudo, com que regularidade serão efetuados os testes, quantas amostras serão testadas, quando é que deverá ser feito o estudo (verão vs. inverno), etc.

iv. Fazer o estudo de tempo de prateleira

Durante o estudo, as amostras deverão estar todas sob as condições a que estariam normalmente sujeitas e essas condições deverão ser monitorizadas.

v. Determinar o tempo de prateleira

Durante o estudo o produto irá eventualmente chegar a um ponto de deterioração. Usando toda a informação obtida terá de se decidir qual é o tempo de prateleira para qual o produto se mantém seguro e é aceite pelo consumidor.

vi. Monitorizar o tempo de prateleira

É importante monitorizar os produtos para os quais já foi definido um tempo de prateleira, nomeadamente os fatores que se mostraram mais importantes na sua estabilidade. Isto permitirá analisar se o tempo de prateleira definido é apropriado. Além disso, sempre que haja alguma alteração na produção de determinado produto deve-se repetir os testes de tempo de prateleira.

Tendo em conta todos estes tópicos verifica-se que um estudo de tempo prateleira é único para cada produto (New Zealand Food Safety Authority, 2005). Idealmente este tipo de estudo deveria ser feito nas condições de armazenamento: ótimas, as que são mais desejáveis para o produto e expectavelmente as condições que levem a um maior tempo de prateleira; nas condições normais, as que são mais prováveis de acontecer; e nas condições mais severas para o produto (Man, 2004).

1.3.2. Métodos indiretos

Os métodos indiretos poderão ser executados através de testes acelerados (ALST – *accelerated shelf life testing*) ou por testes preditivos (New Zealand Food Safety Authority, 2005).

Os testes acelerados são testes em que o tempo de estudo é encurtado pelo o aumento deliberado da deterioração (New Zealand Food Safety Authority, 2005). O princípio do estudo está em, por exemplo, aumentar a temperatura de armazenamento, o que irá proporcionar um aumento da taxa de certa reação limitante e assim o tempo de vida é atingido muito mais rápido. Os valores obtidos são depois extrapolados para a temperatura normal de armazenamento (usando normalmente a equação de Arrhenius) (Figura 2) (Man, 2004; New Zealand Food Safety Authority, 2005). Estes estudos são bastante atrativos para a indústria alimentar pois perante a pressão competitiva e comercial a que o mercado obriga o facto de se ter resultados mais rápidos é bastante vantajoso. No entanto, estes estudos só podem ser aplicados caso haja uma relação entre o comportamento do produto à temperatura normal e o seu comportamento sob condições aceleradas. Para isso é necessário que o processo de deterioração do alimento siga um modelo cinético válido (Man, 2004).

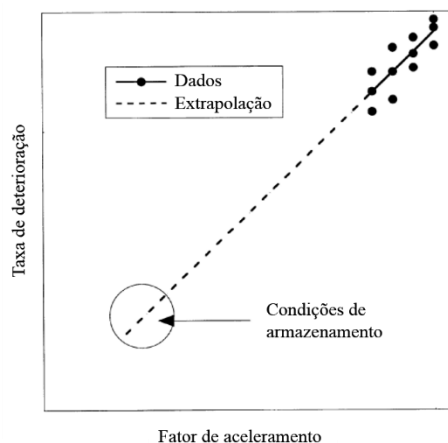


Figura 2 – Diagrama esquemático da extrapolação de dados nos testes acelerados de tempo de prateleira. Adaptado de (Man, 2004).

Verifica-se que estes tipos de testes são bastante limitados, podendo apenas ser utilizados em sistemas muito simples e caso os mecanismos envolvidos nos testes de aceleração sejam muito bem conhecidos. Alguns dos aspetos negativos desta abordagem são:

- Os testes só são válidos caso o fator limitante do tempo de prateleira não se altere;
- Há processos que ocorrem a altas temperaturas que podem alterar o processo deteriorante;
- As previsões só são fidedignas para alimentos simples;
- Poderão surgir problemas de segurança alimentar;
- Terão de ser feitos testes por método direto para projetar o modelo do estudo;
- Teste de aceleração mal projetados poderão dar resultados enganosos (Hough, 2006).

Os testes preditivos são modelos baseados em equações matemáticas que fazem uma previsão do crescimento microbiano sob condições definidas tendo por base uma base de dados (New Zealand Food Safety Authority, 2005).

2. Condimentos e especiarias

Os consumidores preferem a qualidade organolética dos alimentos à qualidade nutritiva dos mesmos. Por vezes, o alimento mais nutritivo não é aceite a menos que seja moderadamente temperado (Ravindran e Kallapurackal, 2012). Talvez por este motivo, o uso de condimentos e especiarias é bastante elevado na indústria alimentar, sendo que, no sector de carnes, nomeadamente em salsicharia o uso de especiarias é bastante usual (Ockerman e Basu, 2014).

Especiarias e condimentos são definidos pela Organização internacional de normalização (ISO do inglês, *International Organization for Standardization*) como produtos vegetais, ou misturas dos mesmos, isentos de matérias estranhas, usadas para condimentar e aromatizar alimentos (Peter e Shylaja, 2012). No entanto, o termo especiaria pode ser utilizado para se referir a ervas, sendo que estas são distintas. O termo ervas refere-se às folhas secas de plantas aromáticas enquanto que as especiarias são qualquer parte da planta seca, que não seja a folha (Peter e Shylaja, 2012). Assim, alguns exemplos de ervas são: manjerição, louro, salsa, orégãos, hortelã, alecrim. Quanto às especiarias, podem ser

originárias de diversas partes anatómicas das plantas, nomeadamente raízes (raiz-forte, do inglês *horseradish*), rizomas (gengibre), flores (camomila), frutas (*capsicum* – pimento, pimentão, *paprika*, pimenta caiena, *chillies* - funcho), bagas (pimenta preta e branca), sementes (anis, cominho, mostarda, noz moscada, sésamo), bolbos (alho, cebola), cascas (canela) e pistilos (açafrão) (Farkas e Farkas-Mohácsi, 2014; Peter e Shylaja, 2012).

As especiarias podem ser classificadas como picantes, suaves, aromáticas, ervas e vegetais aromáticos, como pode ser observado na Tabela 5 (Embuscado, 2015; Farkas e Farkas-Mohácsi, 2014).

Tabela 5 – Classes de especiarias. Adaptado de (Embuscado, 2015; Farkas e Farkas-Mohácsi, 2014).

<i>Classe</i>	<i>Especiaria</i>
Especiarias picantes	<i>Chillies</i> , pimenta caiena, pimenta preta e branca, gengibre
Especiarias suaves	Paprika, coentros
Especiarias aromáticas	Pimenta dioica, canela, cominhos, funcho, noz moscada
Ervas	Manjerição, louro, tomilho
Vegetais aromáticos	Alho, cebola, cebolinho, aipo

Além de serem usadas para dar cor, sabor e aroma, as especiarias são ricas em poderosos antioxidantes, sendo uma possibilidade para controlar a oxidação lipídica dos alimentos (Embuscado, 2015).

2.1. Propriedades antioxidantes e efeito na oxidação lipídica

A oxidação dá-se quando determinado composto adquire eletrões, ao passo que redução é quando outro composto perde esses eletrões. Deste modo, esta reação ocorre ao mesmo tempo e é denominada de reação *redox* (Embuscado, 2015). Esta reação poderá ser inibida ou atrasada por compostos antioxidantes, podendo estes ser naturais ou artificiais (Shahidi e Zhong, 2010). A oxidação lipídica é uma reação que ocorre nos alimentos levando a que estas fiquem impróprias para consumo devido ao desenvolvimento de sabores e aromas a ranço, ou seja *off-flavours*, além de que poderá haver mudanças na cor e textura, bem como perdas nutritivas devido à degradação de vitaminas e ácidos gordos essenciais. Ainda poderá haver formação de compostos nocivos que poderão causar mutagénese e carcinogénese (Embuscado, 2015).

A oxidação lipídica é despoletada por diversos fatores (iniciadores) como a luz, o calor, a humidade, enzimas, pela presença de oxigénio, pela presença de iões metálicos de transição e microrganismos. Estes, levam a processos de autooxidação, fotooxidação, oxidação térmica ou oxidação enzimática (ex.: lipoxigenase). A autooxidação é de todos o mais comum e ocorre quando o conteúdo lipídico de certo alimento reage com o oxigénio atmosférico. Na presença dos iniciadores, as moléculas lipídicas perdem o seu átomo de hidrogénio e formam radicais livres que depois reagem com o oxigénio, formando radicais peroxilo. Inicialmente há formação de peróxidos e hidropéroxidos, seguido da formação de compostos carbonílicos, aldeídos, ácidos, cetonas e álcoois – responsáveis pelos aromas e sabores desagradáveis (Embuscado, 2015; Shahidi e Zhong, 2010).

É possível evitar que este conjunto de reações se desenvolva nos alimentos recorrendo a antioxidantes que estejam naturalmente presente noutros alimentos, como frutas, vegetais, ervas e especiarias. São exemplos de antioxidantes nestes produto alguns compostos fenólicos, incluindo flavonóides, ácido ascórbico, carotenóides, compostos proteicos, esteróis, etc. (Choe e Min, 2009; Embuscado, 2015).

Os antioxidantes podem exercer a sua função por diferentes mecanismos: capturando radicais livres, suprimindo singletos de oxigénio, iões metálicos e/ou produtos secundários de oxidação, inativando peróxidos e outras espécies reativas de oxigénio (ROS, do inglês *reactive oxygen species*) e/ou enzimas pro-oxidativas. Além disso, podem ser classificados como antioxidantes primários se intervirem diretamente na reação, ou como antioxidantes secundários se prevenirem ou retardarem a oxidação através da repressão dos iniciadores ou regenerando os antioxidantes primários. A maior parte dos compostos fenólicos são antioxidantes primários e neutralizam radicais livres doando o seu átomo de hidrogénio (Shahidi e Zhong, 2010).

Nos dias de hoje, devido às preocupações com possíveis malefícios dos antioxidantes sintéticos e também pela crescente procura de produtos naturais e uso de menos aditivos alimentares, os antioxidantes naturais começam a ganhar importância (Embuscado, 2015; Shahidi e Zhong, 2010). Usar as ervas e especiarias como antioxidantes naturais poderá ser uma boa opção porque além de conterem antioxidantes na sua composição, fornecem benefícios à saúde e são rotuladas como especiarias ou aromas naturais (Embuscado, 2015).

Existem inúmeros estudos de aplicação de especiarias em alimentos para a redução da oxidação lipídica, comprovando assim que o uso de ervas e especiarias são uma boa opção no controlo deste tipo de deterioração.

2.2. Propriedades antimicrobianas

As ervas e especiarias são uma fonte importante de compostos antimicrobianos, sendo que o seu uso para o controlo do crescimento microbiano em alimentos poderá ser uma boa alternativa aos aditivos químicos (Peter e Shylaja, 2012). As ervas e especiarias, cujos óleos essenciais contêm maior atividade antimicrobiana são o cravo-da-índia, tomilho, orégãos, canela, pimenta dioica e cominhos (Farkas e Farkas-Mohácsi, 2014). Vários estudos comprovam as propriedades antimicrobianas das especiarias. Por exemplo, um estudo de 2010, demonstrou que a pimenta preta tem atividade antimicrobiana contra vários microrganismos, sendo mais eficaz contra *S. cerevisiae* e *Bacillus subtilis* (Sasidharan e Menon, 2010). Zhang *et al.* verificou também que especiarias como cravo-da-índia, alecrim e canela, possuem atividade antimicrobiana contra *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* (Zhang *et al.*, 2009).

2.3. Pimenta preta

A pimenta preta provém dos frutos maduros de *Piper nigrum* L. e é sem dúvida a rainha das especiarias, sendo a mais importante, a mais popular e a mais usada no mundo (Ravindran e Kallapurackal, 2012). Apesar de ter sido primeiramente produzida na Índia e durante largos anos ter sido este o país a dominar a produção da pimenta (*piper* spp.) (Ravindran e Kallapurackal, 2012), dados referentes a 2013 indicam que os países que mais produzem esta especiaria são o Vietname (163 000 toneladas), a Indonésia (88 700 toneladas) e só em terceiro, a Índia (53 000 toneladas) (FAO, 2016).

Esta especiaria é um ingrediente essencial em inúmeras receitas, sendo que poucos são os pratos de carne ou peixe em que ela não é adicionada. É uma especiaria tão versátil que há muitos poucos alimentos em que ela não se adequa. Além disso, é utilizada em vários condimentos e temperos, como por exemplo para a formulação de salsicha fumada e salsicha de porco e em molhos, como o bechamel e natas (Ravindran e Kallapurackal, 2012).

A pimenta preta deverá ter bom aroma e um sabor picante sendo que a sua qualidade está relacionada com o teor de piperina, composto responsável pela pungência, devendo conter pelo menos 3%, e com o teor de óleos voláteis, que contribuem para o sabor e aroma, contendo pelo menos 1,5% (Ravindran e Kallapurackal, 2012). Na Tabela 6 observa-se a composição nutricional usual da pimenta preta. Os óleos voláteis mais comuns nesta especiaria são α - e β -pineno, d-limoneno e β -cariofileno (Ravindran e Kallapurackal, 2012; Sasidharan e Menon, 2010; Zachariah e Parthasarathy, 2008).

Na produção e armazenamento da pimenta preta moída deverá ser assegurado um nível de humidade baixo pois humidades altas irão comprometer o tempo de prateleira. Deverá ser otimizado o tamanho das partículas para garantir um pó solto, sem agregados (*free flow*) durante o tempo de validade. Além disso, a embalagem deverá ser hermética e segura e deve-se garantir uma boa higiene microbiológica (ausência de bolores e bactérias) (Ravindran e Kallapurackal, 2012).

Tabela 6 – Composição nutricional generalizada da pimenta preta. Adaptado de (Zachariah e Parthasarathy, 2008).

Composição	Por 100 g
Água	8,0 g
Energia	400 Kcal
Proteínas	10,0 g
Lípidos	10,2 g
Hidratos de Carbono	66,5 g

Além do uso culinário, esta especiaria apresenta propriedades medicinais, efeitos antioxidantes e propriedades antimicrobianas (Ravindran e Kallapurackal, 2012).

2.4. Piripiri e o género *Capsicum*

O género *Capsicum* pertence à família *Solanaceae* e as espécies mais comumente domesticadas são *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens* e *C. pubescens* (Berke e Shieh, 2012). Dados referentes a 2013 indicam que os países que mais produzem *Capsicum* na forma seca são a Índia (1 492 000 toneladas), a China (303 435 toneladas) e a Tailândia (282 423 toneladas) (FAO, 2016). A terminologia destas especiarias é bastante confusa na literatura sendo usualmente usado os termos *chilli*, *pepper* (pimento ou pimentão), pimenta

vermelha, pimento doce, *paprika* e *capsicum* indistintamente. Em alguns casos assume-se que o *chilli* ou o pimento são os nomes mais gerais, denominando todas as espécies *Capsicum*. No entanto, há quem considere que *chilli* se refere às espécies *Capsicum* mais pungentes de *C. annuum* e *C. frutescens*. Relativamente à *paprika*, alguns consideram que faz parte do grupo do *chilli*, sendo definido como um pó seco, vermelho, doce, sem pungência e produzida por qualquer tipo de *C. annuum*. Outros autores consideram que *paprika* tanto pode ser pungente como não (Berke e Shieh, 2012; Zachariah e Gobinath, 2008). Tendo isto em conta, verifica-se que não é consensual a terminologia do género *capsicum*. Neste trabalho foi utilizado o *C. annuum*, denominado em Portugal como piriri.

Esta especiaria é bastante utilizada pelo seu sabor, aroma, pungência e cor. Pode ser usada na forma fresca, desidratada, congelada, fumada, fermentada ou em extrato (referenciado como aditivo E160c) (Berke e Shieh, 2012). É bastante usada como corante nos processados de carne (salsicharia), sendo a sua cor devida à presença de carotenoides pigmentados vermelhos, sendo os mais prevalentes a capsantina, capsorubina, zeaxantina e criptoxantina. Tanto a capsantina e capsorubina podem ser usados como aditivos alimentares – E160c (Berke e Shieh, 2012; Zachariah e Gobinath, 2008).

A pungência do género *Capsicum* deve-se aos capsaicinóides (compostos alcaloides) produzidos no fruto e são estruturalmente semelhantes à piperina, o componente que dá pungência às pimentas brancas e pretas. Usualmente, o composto capsaicinóide mais abundante é a capsaicina. A quantidade destes compostos nestas especiarias é muito variável dependendo das condições de crescimento e da idade do fruto (Berke e Shieh, 2012).

Na Tabela 7 é possível observar de um modo generalizado a composição nutricional da paprika e do *chilli*. Estas têm um elevado conteúdo em vitaminas A, E e C (Berke e Shieh, 2012; Zachariah e Gobinath, 2008).

Tabela 7 – Composição nutricional usual da paprika e do *chilli*. Adaptado de (Zachariah e Gobinath, 2008).

Composição	<i>Paprika</i> (100 g)	<i>Chilli</i> (100 g)
Água	7,90 g	6,50 g
Proteínas	13,80 g	14,00 g
Lípidos	10,40 g	14,10 g
Hidratos de Carbono	60,30 g	58,20 g

Além dos usos alimentares, *Capsicum* é utilizado na indústria farmacêutica em cremes para dor pós-operatória de mastectomias e de amputados para combater as dores fantasma. Além disso, esta especiaria, à semelhança de outras, também possui atividade antioxidante (Zachariah e Gobinath, 2008).

2.5. Salsa

A salsa (*Petroselinum crispum*) é uma erva pertencente à família *Apiaceae*. Tem folhas aromáticas e é de origem europeia (mediterrânea). É cultivada na Europa (Alemanha, França, Hungria e Bélgica), Estados Unidos e Ásia ocidental. É cultivada normalmente com o intuito principal de ser consumida fresca, no entanto também pode ser usada na sua forma seca e em pó, mantendo a sua cor e sabor característicos se rapidamente desidratadas. Pode ser adicionada para temperar quase todos os pratos fortes e salgados, é usada em sopas, saladas, recheios, carnes picadas, etc. É tradicionalmente muito usada na gastronomia portuguesa. Além de se usar as folhas da salsa, também os seus caules são desidratados e pulverizados e usados como corante alimentar (Azeez e Parthsarathy, 2008; Charles, 2012).

Sugere-se que a salsa tenha propriedades diuréticas, carminativas, antipiréticas, anticancerígenas e antioxidantes. São ricas em vitamina C, A, B₁, B₂ E, e ferro, contêm ácidos gordos e óleos essenciais (Azeez e Parthsarathy, 2008; Charles, 2012; Zhang *et al.*, 2006). O conteúdo de óleos essenciais presentes nas folhas, é muito variável, no entanto, normalmente está sempre presente o 1,3,8- ρ - mentatrieno, um dos responsáveis pelo típico aroma da salsa (Azeez e Parthsarathy, 2008; Charles, 2012; Petropoulos *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2006). Na Tabela 8 encontra-se a composição nutricional generalizada da salsa.

Tabela 8 – Composição nutricional generalizada da salsa. Adaptado de (Azeez e Parthsarathy, 2008).

Composição	Por 100 g
Água	79-89 g
Energia	21-60 Kcal
Proteínas	3,7-5,2 g
Lípidos	Até 1,0 g
Açúcares	vestígios

Na forma fresca deve ser armazenada no fresco, mas na forma seca deve estar numa embalagem hermeticamente fechada, sem exposição à luz e calor.

2.6. Deterioração expectável

De acordo com a Tabela 3, anteriormente apresentada, verifica-se que as especiarias apresentam uma a_w entre 0,20 e 0,60 (Ross e Nichols, 2014). Observando a Figura 1, verifica-se que neste intervalo de atividade de água é quando as reações de oxidação lipídica, acastanhamento não enzimático e atividade enzimática são mais baixas, começando a aumentar a sua taxa de reação a partir de a_w de 0,5 a 0,6 (Belitz, Schieberle e Grosch, 2009). Além disso, tendo em conta a Tabela 4, poderá haver desenvolvimento de bolores a partir de uma atividade de água de 0,6 (Prabhakar e Mallika, 2014).

A nível microbiológico, as especiarias apesar de terem baixa atividade de água podem ser contaminadas por alguns microrganismos, incluindo patogénicos e toxinogénicos. Esta contaminação pode ocorrer em qualquer fase de produção incluindo armazenamento e transporte (Schaarschmidt *et al.*, 2016). É necessário ter em atenção que uma contaminação neste tipo de produtos, que é incorporado na maior parte dos produtos alimentares, pode ter um grande impacto e contaminar muitos géneros alimentícios (Schaarschmidt, 2016). De facto, há registo de alguns surtos alimentares associados a especiarias contaminadas, de *Salmonella*, *Bacillus* spp, *Clostridium perfringens* (Schaarschmidt *et al.*, 2016). Um estudo de Banach *et al.*, sobre a análise de dados de base de dados que monitorizam os riscos microbiológicos, concluiu que tanto a *Salmonella* spp. como *Bacillus* spp. são um potencial problema em pimenta preta e em ervas desidratadas (Banach *et al.*, 2016).

Também os bolores conseguem contaminar as especiarias, constituindo perigo microbiológico pela produção de micotoxinas. As mais relevantes nas especiarias são a ocratoxina A e as aflatoxinas (B1, B2, G1 e G2) produzidas por fungos *Aspergillus* (Schaarschmidt, 2016). O estudo de Banach *et al.* concluiu também que a aflatoxina B1 e a ocratoxina A poderão ser um problema em *chillies* e *paprika* (Banach *et al.*, 2016).

Um estudo que analisou 30 especiarias verificou a presença de bolores em 50% das amostras e de bactérias esporulantes em 80% das amostras (Witkowska *et al.*, 2011). Um estudo de Hashem e Alamri sobre 15 especiarias do mercado da Arábia Saudita, verificou que os bolores que mais contaminavam as especiarias eram *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* e *Penicillium arenicola* (Hashem e Alamri, 2010). Nestes dois últimos estudos, verificou-se que o gengibre foi das especiarias mais contaminadas (Hashem e Alamri, 2010; Witkowska *et al.*, 2011). No entanto, noutro estudo verificou-se que o gengibre não teve qualquer contaminação por fungos e que o *chilli* foi a especiaria mais contaminada. Além

disso, os autores chegaram à conclusão que os fungos que mais contaminavam as especiarias eram, também, o *Aspergillus niger* e o *Aspergillus flavus*. Verificaram que tanto o *chilli* como a pimenta tinham valores superiores ao permitidos de aflatoxinas (Hammami *et al.*, 2014). Tendo em conta estes estudos, verifica-se que a carga microbiana de uma especiaria é variável. De facto, esta pode ser afetada pela região de origem da especiaria, pelo ano de produção, pela sua colheita, pelo seu armazenamento, etc. (ICMSF, 2005).

De um modo geral, a microflora inicial das especiarias é aquela que deriva do solo onde são cultivadas. No entanto, depois do processo de desidratação poderá conter bactérias mesófilas esporulantes (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, etc.) e bolores (*Aspergillus*), pois são aqueles que tem a capacidade de sobreviver a este processo (Farkas e Farkas-Mohácsi, 2014; ICMSF, 2005). A pimenta preta, *paprika*, manjerição e açafrão são as especiarias consideradas como mais contaminadas com bactérias (Farkas e Farkas-Mohácsi, 2014).

Embora existam muitas normas e critérios microbiológicos para produtos de origem animal, o mesmo não acontece para alimentos de origem vegetal, nomeadamente para especiarias. Na europa algumas normas podem ser encontradas, no entanto não têm carácter obrigatório (Schaarschmidt *et al.*, 2016). Deste modo, a recomendação 2004/24/CE sugere a realização de um controlo microbiológico de *Salmonella spp.*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* e de *Enterobacteriaceae* (Comissão Europeia, 2004).

Relativamente às micotoxinas, existem teores máximos estipulados pela União Europeia, relativamente à aflatoxina B1, ao somatório das aflatoxinas (B1, B2, G1 e G2) e à ocratoxina A, nomeadamente em especiarias *Capsicum spp*, pimenta preta e branca, noz moscada, gengibre, curcuma e misturas de especiarias que contenham qualquer uma das anteriormente mencionadas (Comissão Europeia, 2006, 2015).

Relativamente à deterioração não microbiana, no género *Capsicum* o conteúdo de capsaicinóides nos produtos desidratados é afetado e tipicamente há perda de 1-2% por mês a -16 °C. À temperatura ambiente este valor aumenta podendo haver perdas de 5% ao mês dependendo do tamanho de moagem e a temperatura de armazenamento. Também a cor é instável durante o armazenamento, sendo mais instável nos produtos em pó do que em *chilli* inteiro. Os fatores que mais afetam a cor são a temperatura e a humidade. Em regra geral, quando a cor começa a desaparecer também o sabor desaparece. (Berke e Shieh, 2012).

No que diz respeito à pimenta preta, se esta for bem desidratada (humidade 8 a 10%) e armazenada hermeticamente, sugere-se que o seu aroma e sabor mantenham-se durante

vários anos (Zachariah e Parthasarathy, 2008). No entanto, num estudo de 1999 observou-se que ao fim de 30 dias de armazenamento houve perda de aroma (Jagella e Grosch, 1999). Noutro estudo, verificou-se que ao longo do armazenamento (de 80 dias) o aroma foi rapidamente desaparecendo, no entanto, o sabor foi se mantendo até aos 30 dias de armazenamento. Ao fim dos 80 dias todas as amostras foram consideradas deterioradas, com odor e sabor atípico, no entanto, o conteúdo de piperina manteve-se praticamente inalterável (Narasimhan *et al.*, 1990).

Relativamente à salsa, estudos efetuados verificaram que durante a secagem da salsa há perdas de óleos voláteis, no entanto a nível organolético não há diferenças significativas. (Mangkoltriluk, Srzednicki e Craske, 2005; Petropoulos *et al.*, 2010). Petropoulos *et al.* verificou que ao longo do armazenamento vai-se perdendo o composto 1,3,8- α - mentatrieno, um dos mais importantes para o aroma da salsa (Petropoulos *et al.*, 2010).

Concluindo, de maneira a manter a qualidade das especiarias é essencial que haja um embalamento e um armazenamento adequado. Isto porque, por natureza as especiarias são higroscópicas, sendo altamente sensíveis à humidade, e a absorção de água poderá levar à sua solidificação/ aglomeração, perda de cor, rancidez, crescimento de bolores e infestação de insetos. Além disso, em caso de mau acondicionamento poderá haver absorção de odores estranhos e exposição a calor e luz acelera a deterioração do aroma e do sabor (Peter e Shylaja, 2012). As condições ideais de armazenamento destes produtos são: ausência de atmosfera, humidade relativa inferior a 60% e temperatura abaixo dos 20 °C. (Belitz, Schieberle e Grosch, 2009).

3. Aditivos alimentares

A indústria alimentar tem como objetivo principal ir de encontro com as necessidades dos seus consumidores fornecendo um grande leque de produtos que sejam seguros, saudáveis, nutritivos e atraentes com preços acessíveis durante o ano todo, respondendo aos requisitos de qualidade, conveniência, preço e variedade. Tal seria impossível sem o uso de aditivos alimentares. Eles são essenciais para tornar os alimentos seguros, estáveis e com uma qualidade consistente e permitem desenvolver produtos que poderão ser rapidamente preparados e consumidos. No entanto, existe alguma controvérsia no uso destes compostos pelos consumidores, resultante de uma má compreensão por parte destes, julgando os aditivos desnecessários, não naturais e prejudiciais. (Saltmarsh e Insall, 2013).

Um aditivo alimentar, segundo o Regulamento (CE) nº 1333/2008 do parlamento europeu e do conselho de 16 de Dezembro de 2008 é: “qualquer substância não consumida habitualmente como género alimentício em si mesma e habitualmente não utilizada como ingrediente característico dos géneros alimentícios, com ou sem valor nutritivo, e cuja adição intencional aos géneros alimentícios, com um objetivo tecnológico na fase de fabrico, transformação, preparação, tratamento, embalagem, transporte ou armazenagem, tenha por efeito, ou possa legitimamente considerar-se como tendo por efeito, que ela própria ou os seus derivados se tornem direta ou indiretamente um componente desses géneros alimentícios” (Parlamento Europeu, 2016). De um modo geral, os aditivos alimentares são utilizados com dois objetivos: tornar os alimentos mais seguros através da proteção dos mesmo contra microrganismos, oxidação ou outras alterações químicas ou para tornar os alimentos mais atraentes, mais saborosos e/ou com melhor textura (Saltmarsh e Insall, 2013).

3.1. Classe de aditivos

Os aditivos poderão ser agrupados consoante a função que exercem quando adicionados aos alimentos. Estas substâncias não são exclusivas a uma classe de aditivos, sendo que um aditivo poderá ter várias funções e assim pertencer a varias classes de aditivos. Na Tabela 9 são demonstrados alguns exemplos das classes dos aditivos existentes.

Tabela 9 – Exemplos de aditivos usados em processados de carne. Adaptado de (Parlamento Europeu, 2016).

Classe do aditivo	Função	Exemplos
Edulcorantes	Conferir sabor doce	Sorbitol, Manitol, Aspartame, Glicosídeos de esteviol
Corantes	Conferir ou restituir cor (incluindo corantes naturais)	Curcumina, Cochonilha
Conservantes	Prolongar o prazo de conservação protegendo o alimento da deterioração microbiana	Sulfitos, Nitritos
Antioxidantes	Prolongar o prazo de conservação protegendo o alimento da deterioração oxidativa	Ascorbato de Sódio
Acidificantes	Aumentar a acidez	Ácido cítrico
Reguladores de acidez	Alteram ou controlam a acidez ou alcalinidade	Ácido cítrico
Antiaglomerantes	Reduzir a tendência de as partículas aderirem umas as outras	Silicatos
Intensificadores de sabor	Intensificar o sabor e/ou aroma	Glutamato monossódico
Estabilizantes	Mantêm o estado físico-químico do alimento. Permitem a manutenção de uma dispersão homogênea de duas ou mais substâncias imiscíveis.	Difosfatos

Os aromas não estão contemplados nos aditivos, no entanto possuem legislação associada. Segundo o regulamento (CE) N° 1334/2008 os aromas e ingredientes alimentares com propriedades aromatizantes são utilizados para melhorar ou modificar o aroma e/ou o sabor dos alimentos em benefício dos consumidores, sendo a sua definição “produtos não destinados a serem consumidos como tais e que são adicionados aos géneros alimentícios para lhes conferir aroma e/ou sabor ou modificar estes últimos”. Os aromas podem ser então obtidos por síntese química, isolados por processos químicos, ou serem substâncias aromatizantes naturais. De uma maneira mais detalha, segundo o regulamento (CE) N° 1334/2008 os aromas, poderão ser:

- Substancias químicas com propriedades aromatizantes;
- Obtidos de géneros alimentícios (por processos físicos enzimáticos, ou microbiológicos) ou de materiais de origem vegetal, animal ou microbiológica que não sejam géneros alimentícios (por processos físicos enzimáticos, ou microbiológicos);

- Obtidos por tratamento térmico de géneros alimentícios ou não, que por si só não tenham propriedade aromatizantes (que pelo menos um contenha azoto (grupo amino) e outra seja açúcar redutor);
- Obtidos por fracionamento e purificação de um fumo condensado que produza condensado primários de fumo, frações primárias de alcatrão e/ou aromas de fumo derivados;
- Percursos de aroma (género alimentício ou não), que não possuem por si próprias propriedades aromatizantes, mas que quando adicionado ao alimento produz aroma por decomposição ou reação com outros componentes durante a transformação alimentar (Parlamento Europeu, 2008).

Os aromas poderão ser apenas indicados como “aromatizantes” nos rótulos das embalagens, no entanto se o sabor a fumado de um determinado género alimentício se dever à adição de aromas de fumo, os consumidores deverão ser informados do facto (Parlamento Europeu, 2008).

Os extensores, embora não sejam contemplados numa classe aditivos, são ingredientes que são adicionados à carne para reduzir custos da formulação e para alterar aspetos sensoriais dos produtos cárnicos. Muitos ingredientes podem ser utilizados como extensores, no entanto na prática só alguns são mais utilizados, como por exemplo, farinha de trigo, glúten de trigo, amidos, farinha de soja, proteína de soja, etc. Estes terão de ser cuidadosamente escolhidos consoante as suas propriedades funcionais para se obter o produto desejado ao custo desejado. De um modo geral, as funções destes ingredientes são reduzir o custo de formulação, aumentar a ligação da água (permitindo assim uma maior retenção de água e, por conseguinte, uma redução de custo pois há maior rendimento do produto), modificação de textura, sabor, aparência e coesão, proporcionar uma gelatinização a quente ou a frio, entre outros (Mills, 2014).

3.1.1. Ácido ascórbico e ascorbato de sódio

O ácido ascórbico, vulgarmente conhecido como vitamina C, ocorre naturalmente na natureza nomeadamente em frutas e vegetais. Como aditivo é usado como antioxidante devido à sua capacidade de reagir rapidamente com o oxigénio, evitando a oxidação de outros ingredientes. O ascorbato de sódio é o sal de sódio do ácido ascórbico e exerce o

mesmo efeito que este. Estes dois compostos são utilizados para diminuir a descoloração de fruta e vegetais enlatados e purés de frutas. Na carne, melhora a formação de cor e reduz a criação de nitrosaminas. É também adicionado aos produtos alimentícios como forma de fornecer vitamina C adicional (Saltmarsh, 2013).

3.1.2. Metabissulfito de sódio

O metabissulfito de sódio é um conservante do grupo dos sulfitos. É um sal do ácido sulfuroso (formado quando o dióxido enxofre é dissolvido em água), sendo que, quando adicionado ao alimento altera-se consoante o tipo de produto. Normalmente é convertido em espécies iónicas, na maioria hidrogenossulfito e ião sulfito e apenas em alimentos muito ácidos é convertido em dióxido de enxofre (Saltmarsh, 2013).

Este tipo de conservantes são utilizados principalmente como agentes antimicrobianos, no entanto também poderão ser utilizados para controlar acastanhamento enzimático e não enzimático, controlar oxidação lipídica e para preservar a cor vermelha da carne. Como agente microbiano é muito usado em bebidas fermentadas e não fermentas e em salsichas e hambúrgueres, para inibir o crescimento de *Salmonella* e leveduras deteriorantes. Em fruta e vegetais é utilizado para controlar o acastanhamento enzimático, prevenir a perda de cor na desidratação e aumentar a retenção de vitaminas A e C (Belitz, Schieberle e Grosch, 2009; Saltmarsh, 2013).

3.1.3. Glutamato monossódico

O glutamato monossódico é um intensificador de sabor sendo a sua função, como o nome indica, desenvolver e aumentar/realçar o sabor de produtos “apetitosos”. É o sal de sódio do ácido glutâmico, um aminoácido bastante abundante na natureza. É obtido através da fermentação de amido ou melaços e é usualmente utilizado em sopas, temperos/condimentos, refeição pré-feitas e salsichas. Há quem considere que o sabor do glutamato é o quinto sabor básico (chamado de *umami*), por ter um sabor diferente do doce, salgado, azedo e amargo (Saltmarsh, 2013).

3.1.4. Ácido cítrico

O ácido cítrico é dos aditivos mais utilizados atualmente. É natural, estando presente em frutos cítricos e pode ser utilizado com vários fins nos alimentos, tais como, acidificante, regulador de acidez e antioxidante. É capaz de inibir reações de oxidação lipídica e de proporcionar um sabor ácido em muitos produtos. Inicialmente era extraído diretamente do sumo de limão mas nos dias de hoje é obtido por fermentação via *Aspergillus niger*. Devido à sua acidez, quando adicionado aos alimentos, baixa o pH levando a uma inibição de crescimento microbiano e de deterioração (Saltmarsh, 2013).

3.1.5. Difosfatos

Os difosfatos poderão exercer varias funções nos alimentos nomeadamente como levedantes químicos, emulsionantes e estabilizantes. Este aditivo é mais utilizado na indústria de panificação como levedante, no entanto, é utilizado nos produtos cárnicos como estabilizante. Nestes produtos, juntamente com o sal, permitem que haja expansão da fibras cárneas e retenção de água dentro delas, aumentando a suculência. Poderão também extrair as proteínas da carne permitindo a formação de um exsudado de proteínas, o que levará à ligação da carne e à formação de um aglomerado de carne triturada. Além disso, é utilizado como emulsionante em queijo (Saltmarsh, 2013).

3.2. Deterioração expectável

No caso dos aditivos, sendo substâncias químicas, a deterioração microbiológica não se coloca em causa, no entanto a instabilidade química é importante. Contudo a bibliografia sobre a estabilidade destes compostos é bastante reduzida.

Saltmarsh (2013) afirma que o ácido cítrico é estável tanto em solução como em pó e que o metabissulfito de sódio é estável quando armazenado e manuseado em ambiente fabril. Relativamente aos ascorbatos, afirma que oxidam gradualmente e por isso devem ser mantidos selados no escuro. De facto, existem alguns estudos relativos à instabilidade do ácido ascórbico. Por exemplo, Oyetade verificou que a embalagem, a exposição à atmosfera e a temperatura afetam significativamente a estabilidade do ácido ascórbico. Recomenda assim, a refrigeração como condição menos negativa para armazenar a vitamina C. (Oyetade *et al.*, 2012). Em 1975, Lee e Labuza reportaram que o ácido ascórbico é bastante deteriorado

com a humidade e em 1999, Shephard e sua equipa verificaram que a humidade leva a uma severa descoloração acastanhada (Lee e Labuza, 1975; Shephard, Nichols e Braithwaite, 1999). Outro estudo de 2007 verifica que a degradação do ácido ascórbico aumenta com o aumento da atividade da água (Sablani *et al.*, 2007). Conclui-se assim que a vitamina C é bastante instável e que se deve considerar a humidade, o oxigénio e a temperatura durante o armazenamento.

Relativamente à estabilidade dos difosfatos e do glutamato monossódico não foram encontrados quaisquer estudos.

Desenvolvimento de novos produtos curados

O desenvolvimento de novos produtos é uma atividade crucial na indústria alimentar, tendo sido inicialmente pouco relacionada com as áreas de investigação e engenharia da empresa, tornou-se gradualmente numa área estratégica de negócio e de tecnologia avançada. O crescimento de uma empresa depende da introdução de novos produtos em antigos e novos mercados, sendo necessário perceber o comportamento dos consumidores para conseguir desenvolver produtos que vão de encontro com as suas necessidades. No entanto, é necessário ter conhecimento tecnológico e capacidade organizacional para lançar um produto de sucesso no mercado. Hoje em dia existe uma grande pressão para a criação de produtos diferentes, mais baratos e convenientes. Deste modo, a inovação pode surgir de várias formas, como demonstrado na Tabela 10 (Earle, Earle e Anderson, 2001).

Tabela 10 – Categorias de novos produtos. Adaptado de (Earle, Earle e Anderson, 2001).

Novos para o mundo	Produtos que são uma inovação para a sociedade
Novas linhas de produto	Produtos que são novos na empresa
Extensão de linhas de produto	Produtos que são adicionados a linhas existentes da empresa
Melhoramento de produtos	Substituição de um produto por uma versão melhorada
Reposicionamento de produtos	Produtos que são direccionados para novas aplicações ou novos mercados
Redução de preço de produtos	Reposicionamento como um produto mais barato, com características similares a custos mais baixos.

Durante o estágio na Irmãos Monteiro, S.A. surgiu a oportunidade de colaborar no desenvolvimento de dois produtos fermentados curados – salame e *chorizo* picante. O primeiro surgiu da necessidade de alteração da corrente formulação devido à descontinuação de uma matéria-prima e o segundo devido a pedido de um cliente. Deste modo, houve a criação de dois novos produtos, um por melhoramento de produto e redução de preço de produto e outro por extensão de linha de produto.

Produtos curados fermentados constituem um dos alimentos tradicionais que mais se consome, sendo de uma grande variedade de sabores e texturas representando normalmente heranças culturais e gastronómicas. Devido à constante procura por melhorar os aspetos sensoriais de alimentos existe cada vez mais interesse neste tipo de produtos (Toldrá, 2002). A FAO (Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação, do inglês *Food and Agriculture Organization of the United Nations*) define este tipo de produtos como produtos de carne crua com uma mistura de carnes magras e gordura combinadas com sal, nitrito (agente de cura), açúcares e especiarias. As suas propriedades são obtidas por meio da fermentação que sofrem e tornam-se produtos seguros devido ao período de maturação e secagem a que são sujeitos, sendo que não sofrem qualquer tipo de tratamento térmico e são consumidos na sua maioria crus (Astiasarán e Ansorena, 2016). Na verdade este tipo de produto é um exemplo do que o efeito *hurdle* descreve (do inglês *hurdle effect*, descrito por Leistner como um conjunto de fatores que ajudam na conservação dos produtos alimentares) visto que vários fatores ajudam a que este produto se conserve bem, tais como: a adição de nitrito, sal e açúcar, a redução do potencial *redox*, a existência de bactéria ácido-láticas, a redução do pH e a_w e a fumagem (Toldrá, 2002; Toldrá e Hui, 2015).

Existem vários tipos de produtos curados, diferenciados pelos ingredientes que os constituem, pelas formas e calibres e pelas condições de processamento (Leroy e Vuyst, De, 2016). Alguns exemplos são diferentes tipos de *salami*, *chorizo*, *saucisson*, *fuet*, salpicão, *pepperoni*, etc. (Astiasarán e Ansorena, 2016; Leroy e Vuyst, De, 2016). Sendo difícil classificar este tipo de produtos devido à sua enorme variedade, existe uma classificação segundo a extensão de secagem, existindo produtos semi-secos – com quebra inferior a 20% de peso – e produtos secos – com quebra superior a 30%. Quanto ao tempo de maturação existem produtos que poderão demorar até 7 dias (processo rápido), outros por volta de 3 semanas (processo normal) e outros que poderão demorar de 90 a 120 dias (ou até mesmo de 150 a 180 dias - processo longo). A diferença entre o tempo de processamento irá influenciar fortemente as características sensoriais do produto final (Toldrá, 2002).

1. Ingredientes utilizados

De um modo geral, neste tipo de produtos é utilizado carne magra, gordura, sal, nitritos, cultivos ácido-lácticos, açúcar e especiarias. A carne usada é usualmente de porco e/ou vaca, no entanto pode-se usar as mais variadíssimas carnes para produzir diferentes produtos (Feiner, 2016; Ockerman e Basu, 2015). Quando há mistura de carne de porco com vaca, a proporção costuma ser de 50-60% de porco com 10-20% de vaca. É preferível a carne de animais mais velhos pois contêm maior quantidade de mioglobina, aumentando a intensidade da cor curada. A gordura é normalmente utilizada em quantidades de 25% a 35% sendo que no produto final, devido à desidratação à qual o produto é sujeito, a concentração sobe a 40-50%. É preferencialmente de porco, visto que esta possui propriedades organoléticas superiores à de vaca, e da zona das costas ou pescoço do porco, por esta ser mais dura e permitir um melhor corte sem que desfaça (Feiner, 2016).

O sal e os nitritos são os principais agentes de cura (Toldrá, 2002). O sal é um importante constituinte dos produtos curados, não só pelo seu sabor, mas também porque constitui uma barreira ao crescimento microbiano indesejado e reduz a a_w . É utilizado em quantidades relativamente elevadas de 2,6% a 3% (Feiner, 2016). Outro constituinte importante na inibição microbiológica são os nitritos, sendo de grande importância para a inibir o crescimento do *Clostridium botulinum*, inibindo também *Salmonella* e *Staphylococcus aureus* (Feiner, 2016; Toldrá, 2002). A quantidade usada na produção destes produtos depende bastante do máximo definido na lei (Feiner, 2016). Na União Europeia a quantidade máxima de nitritos autorizada é de 150 mg/kg adicionados durante o fabrico (Parlamento Europeu, 2016). O nitrito é bastante reativo com as proteínas e a sua reação com a mioglobina da carne é essencial para o desenvolvimento da cor curada característica além do que contribui para o sabor típico dos produtos curados (Toldrá, 2002).

Outro importante constituinte são os cultivos ácido-lácticos que são importantes para o decréscimo do pH por meio de fermentação. Existem três maneiras de desenvolver população microbiana na massa do produto: pelo processo tradicional, em que se depende da microflora natural da carne e dos ingredientes utilizados, sendo a fermentação feita a baixas temperaturas e praticados períodos longos de maturação. Este processo apresenta grande variabilidade de produção de ácido láctico constituindo risco microbiológico, sendo por isso utilizadas temperaturas baixas de processamento por forma a evitar a produção de toxinas e bactérias prejudiciais e/ou patogénicas. (Toldrá, 2002). Outra opção é por processo

de *rework*, em que é utilizada 5 a 10% da massa do *batch* anterior para inoculação da massa que se está a trabalhar. Este processo poderá levar a um elevado risco de contaminação e por esse motivo é um processo pouco utilizado (Feiner, 2016; Toldrá, 2002). Por fim, o uso de culturas *starter*, em que se utilizam grandes quantidades de bactérias ácido-láticas para que haja a produção de ácido láctico desejado (Toldrá, 2002).

Os *starters* foram criados para responder a um aumento da produção industrial, sendo o seu uso uma prática recorrente hoje em dia. Surgiram com o objetivo de diminuir os tempos de processamento, de aumentar a uniformidade dos processos e produtos e prolongar o tempo de prateleira (Ockerman e Basu, 2015; Toldrá, 2002). As culturas *starter* comercializadas usualmente têm na sua constituição bactérias ácido-láticas (*Lactobacillus* e *Pediococcus*), para promover a diminuição do pH desejada, e também estirpes de *Kocuria* e *Staphylococcus* para aumentar a atividade lipolítica e de enzimas como a catalase e a nitrato redutase (Toldrá, 2002). Na Figura 3 é possível observar um esquema do efeito que as culturas *starter* têm durante a fermentação para a produção de produtos curados.

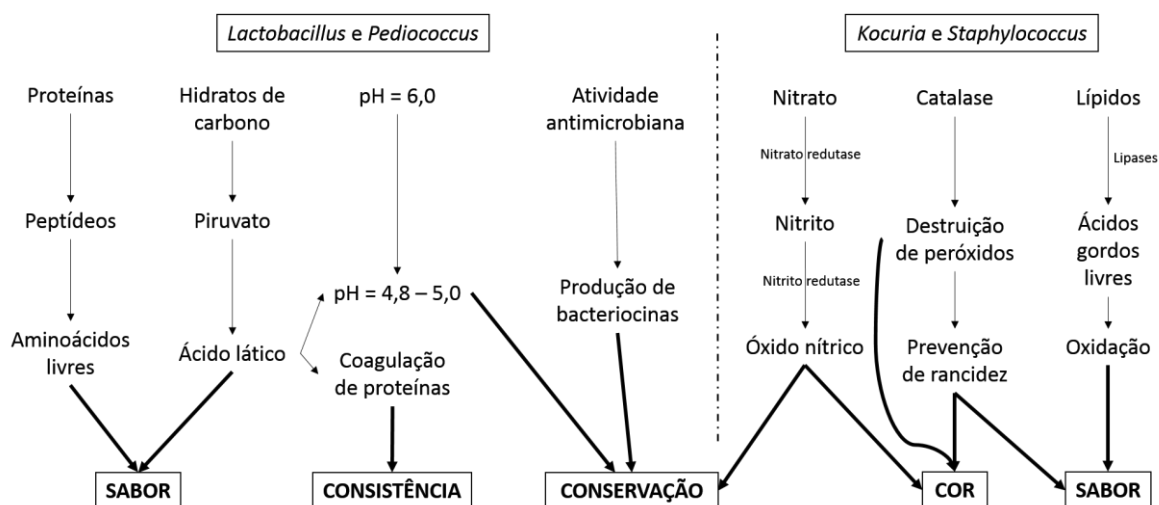


Figura 3 – Efeito das culturas *starter*, baseado nas suas propriedades metabólicas, no produto final. Adaptado de (Toldrá, 2002).

Além do uso de culturas *starter* para o desenvolvimento da fermentação, também é possível utilizar culturas de fungos que são inoculados na superfície do produto contribuindo assim para a uma aparência externa característica, além de que favorece o sabor e a segurança microbiológica do produto final (Toldrá, 2002).

Em alternativa à acidificação por culturas microbiológicas é possível utilizar acidulantes químicos que simulam a acidificação por via fermentativa. O acidulante mais utilizado é o glucono-delta-lactona (GDL), este é hidrolisado a ácido glucónico na presença de água, o que provoca um rápido decréscimo de pH (Feiner, 2016; Toldrá, 2002). A quantidade que se utiliza deste composto varia de 0,3% a 1,2% havendo redução de 0,1 unidades de pH por cada 0,1% de GDL que se utiliza, atingindo-se no final um pH de 4,6-4,8 (Feiner, 2016). A vantagem deste produto é proporcionar um processo de produção mais rápido e por isso menos dispendioso, no entanto há uma diminuição da qualidade do produto final pois existe uma redução drástica da atividade enzimática, além de que o sabor ácido proveniente do ácido glucónico é menos agradável do que o sabor ácido típico do ácido láctico proveniente da fermentação (Feiner, 2016; Toldrá, 2002). Outros acidulantes poderão ser utilizados, como por exemplo ácido cítrico e láctico, no entanto são pouco preferidos porque a rapidez com que reduzem o pH não permite o desenvolvimento da cor e sabor característicos da cura e provocam um sabor azedo no produto (Feiner, 2016).

Açúcares também são adicionados, com o objetivo de servir de “alimento” para as culturas *starter*, sendo a glucose o mais utilizado por ser facilmente metabolizado pelas bactérias. Além disso, tem efeito na redução da a_w do produto e suaviza o seu sabor, sendo que alguns açúcares não tão facilmente metabolizáveis, como a lactose, são favoráveis ao desenvolvimento de aromas e cor. A quantidade que se utiliza de açúcares é de 0,8% a 1% havendo redução de 0,1 unidades de pH por cada 0,1% de glucose que se utiliza, atingindo-se no final um pH de 4,6-4,8. Assim a quantidade de açúcar que se utiliza afeta o valor de pH e a extensão de acidificação do produto (Feiner, 2016).

As especiarias são utilizadas para melhorar o sabor, odor e aspeto e são utilizadas entre 0,3% a 0,6% no produto. As mais utilizadas são pimenta preta e branca, alho, pipiri, pimentão-doce, noz-moscada, funcho e mostarda. É preciso ter em atenção ao uso de especiarias picantes como pipiri que não deverão ser misturadas diretamente com os nitritos pois reagem com os mesmos diminuindo a sua função tecnológica (Feiner, 2016; Ockerman e Basu, 2015).

Outros ingredientes poderão ser utilizados, tais como: glutamato monossódico para intensificar o sabor, antioxidantes para retardar a rancidez, como ácido ascórbico, ascorbato ou eritorbato, corantes para melhorar a cor, etc.

2. Processo de fabrico

O processo de fabrico de produtos curados inclui varias etapas, nomeadamente picagem e mistura, enchimento, fermentação, fumagem e secagem/maturação. Inicialmente as carnes e a gordura, normalmente semicongeladas, são picadas, simultaneamente ou não. O facto de se usar estas peças semicongeladas é importante e tem como objetivo evitar que a gordura durante o corte se desfaça e que a carne não forme uma película fina por cima (Feiner, 2016; Toldrá, 2002). Após a picagem são adicionados os restantes ingredientes e é tudo misturado até ficar homogeneizado. De seguida é feito o enchimento em tripa natural ou sintética com máquinas de enchimento a vácuo, que evitam a formação de bolhas (Toldrá, 2002).

De seguida os produtos são equilibrados à temperatura de fermentação, a uma humidade relativa mais baixa para prevenir condensação à superfície (Toldrá, 2002). Esta fase dura entre 1 a 6 horas em que o produto é mantido a uma humidade relativa entre 60 e 70% a uma temperatura de 16 a 22 °C. Posto isto, para se iniciar a fermentação, a humidade relativa deverá ser aumentada para 90 a 94% e a temperatura para 20 a 28 °C (Feiner, 2016). Durante a fermentação o pH começa a descer devido à produção e acumulação de ácido láctico, surge uma cor característica resultante da reação da hemoglobina com o óxido nítrico, ocorre uma secagem inicial derivado do efeito combinado da temperatura e da humidade e o produto começa a ganhar consistência devido às proteínas musculares atingirem o seu ponto isoelétrico (devido ao decréscimo do pH) havendo perda de água (Toldrá, 2002). A maioria dos microrganismos cresce exponencialmente aquando da fermentação, quer por aumento de temperatura quer pelo decréscimo do pH. Usualmente as bactérias ácido-láticas, no inicio da fermentação, estão numa concentração de 10^3 - 10^5 ufc/g chegando a contagens de 10^7 - 10^9 ufc/g durante a fermentação. Já os bolores e leveduras começam com baixos níveis de 10^2 - 10^3 ufc/g chegando a 10^6 - 10^7 ufc/g durante a fermentação. As leveduras, usualmente *Debaryomyces hansenii*, tendem a crescer no exterior do produto, podendo se encontrar no centro do mesmo no inicio da maturação. Já os bolores, como *Penicillium* apenas crescem na superfície do produto. Se foram indesejados a fumagem ou a imersão em sorbato de potássio e natamicina é uma boa medida para os prevenir. Se forem desejados podem ser aplicados por imersão numa suspensão de culturas de bolores ou borrifados com spray na superfície (Toldrá, 2002).

Durante a fermentação ou durante a cura/maturação o produto pode ser submetido ao processo de fumagem. Este processo é dos mais antigos para a preservação de alimentos e possui certas vantagens. Além de proporcionar um sabor característico ao produto, favorece a cor, possui efeitos bactericidas e bacteriostáticos e exerce propriedades antioxidantes. (Ledesma, Rendueles e Díaz, 2017; Toldrá, 2002). O seu efeito de preservação prende-se por a ação simultânea de diversos fatores (efeito *hurdle*) tais como: inativação térmica de microrganismos deteriorantes, diminuição a atividade de água e presença de compostos antibacterianos e antioxidantes no fumo (Sikorski e Sinkiewicz, 2015). É aconselhado que o produto vá ao fumeiro apenas após 36 a 76 horas porque constituintes do fumo poderão ter impacto negativo no desenvolvimento da cor curada. Deste modo, só quando o produto já atingiu o pH de 5.2 e já tem a cor curada desenvolvida é que deverá ser submetido ao fumeiro. (Feiner, 2016).

A última etapa é da maturação ou secagem, sendo os dois termos usualmente intercambiáveis. Nesta etapa o objetivo é que haja redução de água desejada no menor período de tempo sem que haja enrijecimento da parte exterior do produto. Geralmente esta fase inicia quando se obtém uma estabilidade microbiológica e o produto já atingiu pH de 5.2. O produto deverá ser mantido a uma temperatura de 12-14 °C e a humidade relativa entre 72 e 75% até se atingir a quebra desejada (Feiner, 2016).

International Featured Standards – IFS Food

As normas IFS são um conjunto de oito normas, desenvolvidas para todos os intervenientes da cadeia de fornecimento, para a implementação de requisitos legais e diretrizes uniformes de qualidade e segurança alimentar. Uma empresa certificada demonstra que implementou processos que garantem a segurança dos alimentos, considerando as especificações dos seus clientes (IFS, 2017).

De entre as normas IFS, existe a IFS Food que é uma norma reconhecida pela *Global Food Safety Initiative*, direcionada para a indústria agroalimentar, para auditoria de produtores de alimentos que sofrem processamento ou estão sujeitos a risco de contaminação durante o embalamento primário. O objetivo desta certificação passa por estabelecer uma norma com um sistema de avaliação comum e uniforme e assegurar a transparência e comparabilidade em toda a cadeia de fornecimento. Tudo isto permite que haja uma melhor compreensão dos funcionários sobre boas práticas, normas e procedimentos, uma utilização mais eficaz de recursos, a redução de auditorias por parte dos clientes, monitorização do cumprimento de regulamentos alimentares, melhorar a reputação empresarial como produtor de alta qualidade e segurança alimentar e a negociação com clientes que exigem auditorias de terceiros (APCER, 2017; IFS, 2017).

Na prática esta norma avalia 6 requisitos:

- a responsabilidade da direção – ao nível da sua política, da sua estrutura, do foco no cliente e da sua análise crítica;
- a gestão da qualidade e segurança alimentar – ao nível de documentação e registos e HACCP;
- a gestão de recursos – ao nível de recursos humanos (higiene pessoal, fardas e formação), instalações para o pessoal, sanitárias e material de higiene;
- o planeamento e processo de produção – ao nível de especificações e formulações, na alteração de processos de produção e produtos, embalamento, aquisição e armazenamento, transporte, localização da fábrica, condições da fábrica, fluxos de processo, rastreabilidade, limpeza e descarte de resíduos, pragas, material estranho, equipamentos e manutenção;

- a análise, medições e melhorias – ao nível de auditorias internas, validações e controlo de produtos, calibração de equipamentos, análise de produtos, gestão de reclamações, gestão de não conformidades e ações corretivas;
- *Food Defense* – ao nível de segurança da empresa, das pessoas e dos visitantes (IFS, 2014).

Querendo a empresa Irmãos Monteiro, S.A. diferenciar-se no mercado pela segurança e qualidade alimentar e ir de encontro com as necessidades e requisitos dos seus clientes, surgiu a necessidade de implementar a norma IFS Food.

II – Trabalho desenvolvido

Avaliação da conservação de condimentos e aditivos

Para iniciar o estudo da conservação dos condimentos e aditivos inicialmente foi efetuado um levantamento de todos os produtos secos utilizados pela empresa Irmãos Monteiro, S.A. De seguida, junto da produção, foi averiguado qual o tempo de abertura desses produtos, tendo sido rejeitados todos os que tinham um tempo de abertura inferior a três meses. Da lista resultante foi efetuado um agrupamento dos produtos segundo as suas características e ingredientes, tendo por base as suas fichas técnicas. Posto isto, foram escolhidos oito produtos para efetuar o estudo: piripiri, pimenta, *Mistura de ervas*, *Mix de mortadela*, metabissulfito de sódio, ascorbato de sódio, *Mix para afiambrados* e *Mix extensor*.

1. Produtos em estudo

O piripiri é um pó vermelho acastanhado obtido a partir da moagem de frutos maduros, secos e inteiros de *Capsicum annum Linnaeus* importado da Índia, embalado em sacos de papel com polietileno no interior. O fornecedor recomenda a conservação do produto num local seco e fresco, ao abrigo da luz solar em sacos hermeticamente fechados e indica um prazo de validade de 12 meses. É utilizado em chamuças, croquetes, rissóis e alheiras e costuma ser utilizado em 3 meses.

A pimenta preta é um pó cinza escuro, castanho ou negro, obtido a partir da moagem dos frutos secos e maduros de *Piper nigrum* importada do Vietname, embalado em sacos de polipropileno/poliamida/polietileno ou polipropileno/álcool metílico etileno/polietileno. O fornecedor recomenda a conservação do produto num local seco e fresco, ao abrigo da luz solar em sacos hermeticamente fechados e indica um prazo de validade de 24 meses. É utilizada no pastrami (carne curada envolta num *mix* de especiarias) e salame e é normalmente utilizado no período de 4 meses.

A *Mistura de ervas* é uma mistura de cenoura, cebola, aipo, alho-porro e salsa. O fornecedor recomenda a conservação do produto num local seco e fresco, ao abrigo da luz solar em sacos hermeticamente fechados e indica um prazo de validade de 24 meses em

embalagem fechada original. Esta mistura é utilizada no afiamento de frango e peru e a embalagem costuma ser consumida em 12 meses.

O *Mix Mortadela* é uma mistura de especiarias, dextrose e monoglutamato de sódio (E621) com sabor e aroma a pimenta. O fornecedor recomenda a conservação do produto num local seco e fresco, ao abrigo da luz solar em sacos hermeticamente fechados e indica um prazo de validade de 36 meses em embalagem fechada original. É utilizado em afiamento de frango e peru, salame e *chorizo* picante e a costuma ser consumido no prazo de 6 meses.

O metabisulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) é um aditivo referenciado como E223, utilizado com conservante e é embalado em sacos de papel com embalagem de polietileno no interior. O fornecedor recomenda a conservação do produto num local seco e fresco, ao abrigo da luz solar em sacos hermeticamente fechados e indica um prazo de validade de 24 meses. É utilizado na salsicha fresca e é consumido em 12 meses.

O ascorbato de sódio ($\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_6\text{Na}$) é um aditivo referenciado como E301, utilizado como antioxidante e é embalado em sacos de papel com embalagem de polietileno no interior. O fornecedor recomenda a conservação do produto num local seco e fresco, ao abrigo da luz solar em sacos hermeticamente fechados e indica um prazo de validade de 36 meses. É utilizado na salsicha fresca e é consumido em 6 meses.

O *Mix para afiamentos*, um pó rosa claro, é uma mistura de difosfato (E450), dextrose, ácido ascórbico (E300), ascorbato de sódio (E301), sal, ácido cítrico (E330), especiarias e aromas. O fornecedor recomenda a conservação do produto num local seco e fresco, ao abrigo da luz solar em sacos hermeticamente fechados e indica um prazo de validade de 36 meses. É utilizado no afiamento de frango e peru e costuma ser consumido em 6 meses.

O *Mix extensor* é um extrusado em tiras de uma mistura de glúten de trigo, farinha de soja, proteína de soja isolada, farinha de trigo e farelo de arroz. É utilizado como extensor em produtos que se pretenda substituir a carne ou o peixe. O fornecedor recomenda a conservação do produto a menos de 30 °C, em ambiente com humidade relativa inferior a 60%, em sacos hermeticamente fechados e indica uma validade de 12 meses em embalagem fechada original. Este produto é utilizado em *nuggets* de frango, alheira vegetariana e chamuça vegetariana e a embalagem está normalmente aberta 7 meses.

Na Tabela 11 é possível observar os dados relativos à validade que cada produto possui bem como o tempo que normalmente estão em embalagem aberta, ou seja, o tempo desde a sua abertura até ao seu consumo completo.

Tabela 11 – Tempos de abertura média para cada produto, assim como o respetivo prazo de validade indicado pelo fornecedor.

Produto	Prazo de validade	Tempo de abertura
Piripiri	12 meses	3 meses
Pimenta preta	24 meses	4 meses
<i>Mistura de ervas</i>	24 meses	12 meses
<i>Mix de mortadela</i>	36 meses	6 meses
Metabissulfito de sódio	24 meses	12 meses
Ascorbato de sódio	36 meses	6 meses
<i>Mix para afiambrados</i>	36 meses	6 meses
<i>Mix extensor</i>	12 meses	7 meses

2. Plano de trabalho

De forma a avaliar a conservação dos produtos anteriormente referidos foram efetuados vários estudos ao longo de aproximadamente 5 meses de armazenamento em embalagem aberta. Todos os produtos estudados foram abertos e mantidos nas mesmas condições a que normalmente os condimentos e aditivos estão sujeitos na empresa.

Tabela 12 – Datas de início e fim dos estudos para cada produto assim com o tempo total do estudo.

Produto	Início de estudo*	Término do estudo	Tempo de estudo
Piripiri	16-12-16	18-5-17	153 dias
Pimenta preta	16-12-16	18-5-17	153 dias
Metabissulfito de sódio	16-12-16	18-5-17	154 dias
<i>Mistura de ervas</i>	24-11-16	28-4-17	155 dias
<i>Mix de mortadela</i>	24-11-16	28-4-17	155 dias
<i>Mix extensor</i>	24-11-16	28-4-17	155 dias
<i>Mix para afiambrados</i>	23-11-16	28-4-17	156 dias
Ascorbato de sódio	30-11-16	28-4-17	149 dias

*data em que foi aberta a embalagem original

Na Tabela 12 é possível observar as datas em que os estudos foram iniciados e terminados assim como o tempo total de estudo. As diferenças de início de estudo foram motivadas pelo elevado tempo de entrega de alguns produtos por parte dos fornecedores.

Dependendo do tipo de produto os estudos a efetuar foram diferentes. No entanto, para todos os produtos foi feita uma avaliação do pH¹ e da atividade de água¹, colorimetria¹ e análise microbiológica, sendo que para este último parâmetro, o metabissulfito de sódio e ascorbato de sódio não foram contemplados. Além destes, foram efetuadas determinações de ácido ascórbico¹, de atividade antioxidante¹, atividade antimicrobiana e análise sensorial, dependendo do produto. Para além da avaliação dos produtos, a sala de armazenamento também foi estudada em termos de temperatura e humidade relativa pois não possui qualquer controlo nestes parâmetros. Na Figura 4 é descrito um resumo dos estudos efetuados.

Para efetuar os diversos estudos os produtos foram recolhidos na empresa e de imediato transportados para o laboratório da universidade em frascos de plástico dentro de uma caixa de esferovite, fechados num saco plástico, reduzindo assim a sua exposição ao meio envolvente (luz e oxigénio). A avaliação microbiológica e a determinação de atividade antimicrobiana foram realizadas pela Controlvet, sendo que os produtos foram acondicionados em sacos devidamente identificados e posteriormente transportados pela empresa referida.

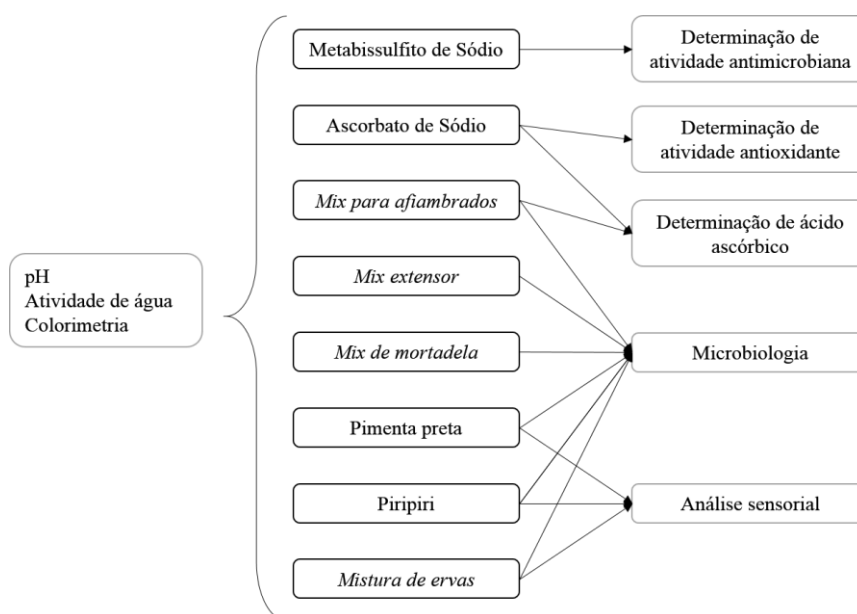


Figura 4 – Esquema dos estudos efetuados a cada um dos produtos.

¹ Análises realizadas com recurso a reagentes e equipamentos gentilmente cedidos pela Universidade de Aveiro.

2.1. Avaliação das condições de armazenamento

Sendo de extrema importância a influência da temperatura e humidade na conservação alimentar estes dois parâmetros foram monitorizados durante o período de armazenamento. Assim, com recurso a um *datalogger* (Velleman DEM 105) foram monitorizadas as condições da sala de armazenamento dos produtos durante todo o estudo, de 10 em 10 minutos. Além disso, foram recolhidas informações sobre o estado de tempo diário de maneira a comparar-se a influência do ambiente exterior na sala de armazenamento. Os dados de temperatura foram recolhidos no site do IPMA (Instituto Português do Mar e Atmosfera), sendo recolhida a temperatura máxima e mínima de cada dia. Os dados da humidade foram gentilmente cedidos pelo CESAM (Centro de Estudos do Ambiente e do Mar) que faz um registo diário de 10 em 10 minutos da humidade na estação meteorológica da Universidade de Aveiro.

2.2. Avaliação do pH e da atividade da água

Tanto o pH como a atividade de água têm impacto no desenvolvimento microbiológico e em diversas reações químicas deteriorantes que ocorrem nos alimentos. Por esse motivo estes dois critérios foram avaliados. O pH foi medido, em todos os produtos, com recurso a um medidor de pH (Crison TitroMatic 1S) mensalmente, em triplicado. Os produtos foram dissolvidos em água destilada de acordo com a percentagem % (m/v) de solução indicada na respetiva ficha técnica –Tabela 13).

Tabela 13 – Percentagens das soluções de cada produto para a avaliação do pH.

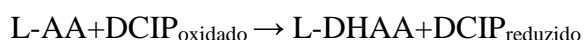
Produto	Solução
Piripiri	5 %
Pimenta preta	5 %
<i>Mistura de ervas</i>	5 %
<i>Mix de mortadela</i>	5 %
Metabissulfito de sódio	5 %
Ascorbato de sódio	10 %
<i>Mix para afiambros</i>	2 %
<i>Mix extensor</i>	10 %

A atividade de água foi medida, em todos os produtos, num higrómetro (Novasina LabSwift-aw) a cada duas semanas, no programa *Average* (tempo de estabilização de 4

minutos em que a variação da a_w é inferior a $\pm 0,001$), em triplicado. Devido a uma avaria no equipamento de medição, não foi possível efetuar medições no último mês de estudo.

2.3.Determinação do ácido ascórbico

O ácido ascórbico é uma vitamina altamente instável, nomeadamente em condições de temperaturas altas, pH alto, luz, oxigénio, enzimas e metais de transição. Devido à sua sensibilidade é usualmente usado como indicador da extensão de processamento alimentar e de conservação alimentar (Ruiz *et al.*, 2016). Por este motivo, foi importante determinar a quantidade de ácido ascórbico no *Mix para afiambros* e no ascorbato de sódio com o intuito de perceber se havia decréscimo deste composto ao longo do tempo de conservação. Para tal utilizou-se o método de DCIP e foram feitos estudos mensalmente. Este método baseia-se numa reação de oxidação-redução, em que o ácido ascórbico reduz o 2,6-diclorofenolindofenol (DCIP), um indicador de oxidação-redução que apresenta cor azul quando está oxidado e é incolor quando reduzido. Assim o ácido ascórbico (L-AA), é oxidado a ácido desidro-L-ascórbico (L-DHAA).



Por cada amostra, pesou-se 1,5 g de *Mix para afiambros* ou 0,1 g de ascorbato de sódio. As amostras foram dissolvidas em 50 mL de uma solução de ácido oxálico a 1%. A concentração de ácido ascórbico foi determinada na solução após filtração.

Preparou-se uma solução de 36 mg/L de DCIP (Sigma) e uma solução padrão-mãe de ácido ascórbico 0,1% (VWR) em ácido oxálico 1% (Sigma). Foi feita uma curva de calibração para o ácido ascórbico (0 a 80mg/L). As leituras foram realizadas em triplicado em espectrofotómetro a 515nm (Jenway, 6405 UV/Vis) (Adaptado de (Guildas, 2003)).

2.4.Determinação da atividade antioxidante

Uma das razões pela qual se usa o ascorbato de sódio prende-se pelo facto de este ser um antioxidante. Por este motivo, é necessário garantir que a sua atividade antioxidante não se altera ao longo do seu tempo de armazenamento. Para tal, foi realizado um ensaio usualmente denominado de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazilo) de uma amostra coletada todos os meses, posteriormente embalada a vácuo e congelada a -20 °C e descongelada na altura do ensaio. O método de DPPH baseia-se na reação entre o radical estável DPPH[•] em

solução de metanol com um composto antioxidante, com o objetivo de avaliar a sua capacidade antioxidante. Na forma de radical o DPPH^{*} absorve a 515 nm apresentando uma cor violeta, mas com a ação redutora de um antioxidante essa absorvância vai diminuindo ou desaparece, consoante o poder antioxidante do composto. Deste modo quanto maior for a diminuição da absorvância, menor será a percentagem de DPPH^{*} restante no meio e maior o poder antioxidante do composto em estudo. (Brand-Williams, Cuvelier e Berset, 1995).

Para cada amostra foram preparadas soluções da mesma em concentrações de 0,1 mM a 1 mM em metanol. Estas foram posteriormente misturadas com solução de DPPH a 60 µM e lidas em espectrofotómetro a 515 nm (Jenway, 6405 UV/Vis), em triplicado, após 5 minutos de reação. Foi feita uma curva de calibração de DPPH (0 a 100 µM). Posteriormente calculou-se a percentagem de DPPH restante com recurso à Equação 1 (Adaptado de (Parejo *et al.*, 2001) e (Brand-Williams, Cuvelier e Berset, 1995)).

Equação 1

$$\% \text{ DPPH restante} = \frac{[\text{DPPH}]_{\text{amostra}}}{[\text{DPPH}]_{\text{controlo}}} \times 100$$

2.5.Determinação da atividade antimicrobiana

Sendo o metabissulfito de sódio um conservante e por isso usado para regular o crescimento microbiano, foi importante determinar se a sua atividade antimicrobiana era perdida ao longo do tempo da sua conservação. Deste modo, as amostras foram enviadas mensalmente para a Controlvet para ser executado um estudo denominado de método das quatro placas. Este método consiste em colocar a amostra, embebida numa esponja com solução a 1% de metabissulfito de sódio, em placa de agar que contém *Bacillus subtilis* ou *Micrococcus luteus* inoculados em meios de cultura a diferentes pH, incubados durante 24h a 37 °C (Tabela 14). Se a amostra detiver atividade antimicrobiana irá criar uma zona de inibição de crescimento microbiano que é depois medida em milímetros. É considerado uma amostra positiva na pesquisa de resíduos de substâncias inibidoras do crescimento microbiano por este método quando a zona de inibição é de pelo menos de 2 mm.

Tabela 14 – Microrganismos inoculados e respectivos pHs do meio na qual a solução de metabissulfito foi administrada.

Microrganismo	pH
<i>Bacillus subtilis</i>	6,0
<i>Bacillus subtilis</i>	7,2
<i>Bacillus subtilis</i>	8,0
<i>Micrococcus luteus</i>	8,0

2.6.Avaliação microbiológica

Sendo a deterioração microbiológica uma das com maior relevância, principalmente ao nível da segurança alimentar, foi necessário avaliar microbiologicamente os produtos em estudo, exceto o metabissulfito de sódio e o ascorbato de sódio pois são substâncias puramente químicas. Não havendo qualquer lei discriminando e obrigando qualquer tipo de análise microbiológica a especiarias e *mix* das mesmas, foram escolhidos parâmetros microbiológicos gerais e que se adequassem à natureza dos produtos. Deste modo, foi efetuada a avaliação de enterobactérias e microrganismos a 30 °C, que são indicadores de higiene, e bolores e leveduras, microrganismos capazes de se desenvolverem em alimentos com baixas atividades de água, fator característico deste tipo de produtos. As análises foram efetuadas mensalmente, numa amostra de 80 g pela Controlvet. Além disso, havendo uma recomendação da comissão europeia (2004/24/CE) sugerindo a realização de um controlo microbiológico de *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* e de *Enterobacteriaceae*, no final do estudo, foram feitas análises mais detalhadas para garantir a conformidade microbiológica nestes parâmetros. Adicionalmente, foi efetuado também controlo de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* visto que estes parâmetros são avaliados pelos fornecedores dos produtos estudados. Todas as análises são acreditadas.

2.7.Avaliação de cor e organolética

As especiarias e condimentos têm uma grande relevância para a valorização organolética de produtos alimentares e como tal é importante estudá-las de um ponto de vista sensorial. Foi assim importante descobrir se o tempo de armazenamento tem efeito na estabilidade organolética dos produtos estudados. Deste modo, para descobrir se ocorreriam alterações de cor durante o tempo de estudo foi efetuada uma análise de colorimetria. Deste modo, com recurso a um espectrofotómetro de medição de cor (Konica Minolta CM-2300d) foram efetuadas medições em todas os produtos, aproximadamente de 75 em 75 dias. As

amostras foram colocadas em pequenas células, preenchidas até ao topo e cobertas com placa de Petri. As medições foram feitas em triplicado e em três zonas distintas da amostra. Os resultados foram processados com o software SpectraMagic™ NX (Konica Minolta) e expressos com sistema CIE (Comissão Internacional da Iluminação, do francês *Commission Internationale de L'éclairage*) $L^*a^*b^*$, em que L^* corresponde à luminosidade (variando de 0 – preto a 100 – branco), a^* corresponde à medida que varia entre verde (-60) até vermelho (+60) e b^* que corresponde à variação entre azul (-60) e amarelo (+60). Foi posteriormente calculada a diferença total de cor (ΔE^*) entre as medições feitas nos diferentes tempos do estudo, de acordo com a Equação 2, e calculado o índice de acastanhamento (BI , do inglês *Browning Index*) para cada medição, de acordo com a Equação 3 (Fante, Pelayo e Noreña, 2012; Palou *et al.*, 1999).

Equação 2

$$\Delta E^* = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2}$$

Equação 3

$$BI = \frac{[100(x - 0,31)]}{0,172} \text{ em que } x = \frac{(a^* + 1,75L^*)}{(5,645L^* + a^* - 3,012b^*)}$$

Sendo o odor e aroma de grande relevância neste tipo de produtos foi efetuada uma análise sensorial de comparação simples para o piripiri, pimenta preta e mistura de ervas. Este estudo consistiu em comparar uma especiaria em estudo, ou seja, que já estava aberta, com uma recentemente aberta (Tabela 15). Como descrito por (Rogers, 2010), neste estudo foi dado ao painel de provadores duas amostras em que lhes foi questionado se as amostras seriam iguais ou diferentes. Deste modo, o painel poderá ter ao ser dispor uma das quatro combinações possíveis: controlo vs. controlo, produto em estudo vs. produto em estudo, controlo vs. produto em estudo e produto em estudo vs. controlo. O painel de provadores foi constituído por estudantes da Universidade de Aveiro e a ficha de prova utilizada pode ser consultada no ANEXO I.

Tabela 15 – Tempos de abertura que as amostras controlo e as amostras em estudo tinham à data da análise sensorial.

Produto	Tempo de abertura à data da análise	
	Amostra controlo	Amostra produto em estudo
Pimenta preta	58 dias	125 dias
Mistura de ervas	0 dias	147 dias
Piriri	50 dias	153 dias

2.8. Análise estatística

A análise estatística foi efetuada com recurso ao *software* STATISTICA® 10. Os resultados relativos a atividade de água, pH, quantificação de ácido ascórbico, colorimetria e atividade antioxidante, obtidos em triplicado, foram analisados estatisticamente usando análise de variância (ANOVA) unidirecional seguida por teste de Tukey com uma significância de 5%, sendo os resultados expressos por média e desvio padrão.

3. Resultados e discussão

Os métodos referidos no tópico anterior foram usados com o objetivo de avaliar a conservação dos produtos estudados, ao longo do tempo. Dependendo do tipo de produto foram efetuados diferentes estudos. Os resultados desses estudos serão abordados ao longo deste tópico, bem como a discussão dos mesmos.

3.1. Condições de armazenamento

Para se estudar a conservação ao longo do tempo de dado produto é necessário perceber em que tipo de ambiente é que este se encontra armazenado. Por esse motivo foi estudada a humidade e temperatura da sala em que os produtos se encontram armazenados. O estudo foi efetuado entre 11 de novembro de 2016 e 18 de maio de 2017.

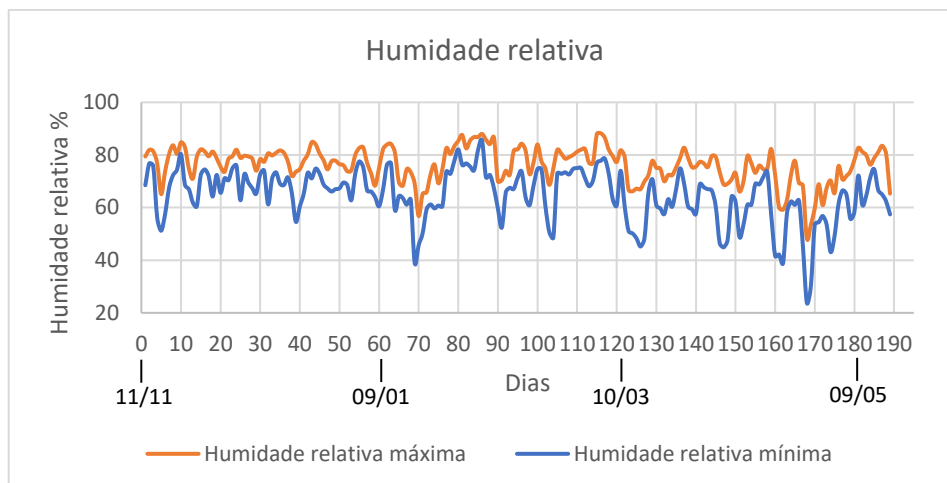


Figura 5 – Humidade relativa mínima e máxima de cada dia, ao longo do tempo de estudo, na sala de armazenamento dos produtos estudados.

Na Figura 5 é possível observar as humidades relativas mínimas e máximas da sala de armazenamento. Verifica-se que a humidade variou bastante ao longo do tempo, sendo que oscilou entre 88,2 % e 23,8%. No entanto, verifica-se que a maior parte do tempo se situa entre 60% a 80%. É de notar que até aos 60 dias, meados de janeiro, a oscilação da humidade foi menor do que no restante tempo de estudo.

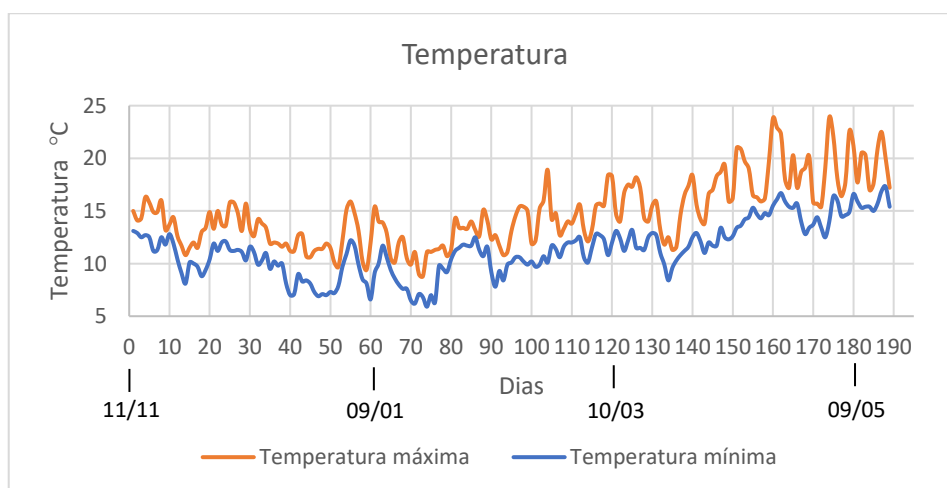


Figura 6 – Temperatura mínima e máxima de cada dia, ao longo do tempo de estudo, na sala de armazenamento dos produtos estudados.

Relativamente à temperatura, na Figura 6, verifica-se que também neste parâmetro se observam bastantes oscilações. A temperatura ao longo do estudo variou entre 5,9 °C e 23,9 °C. É de notar que no início do estudo (até aos 100 dias) a temperatura situou-se entre

5 °C e 15 °C e que no final do estudo (entre o 100 e 190 dias) já oscilava entre os 10°C e 20 °C, sendo que nos últimos 30 dias rondou os 15 °C a 25°C. Deste modo, verifica-se que ao longo do tempo existiu uma subida gradual de temperatura, que se poderá explicar pela subida de temperatura que normalmente se faz sentir ao longo do ano.

De notar que é observado um decréscimo ligeiro da humidade relativa a partir dos 120 dias (meados de março) coincidente com o aumento da temperatura no mesmo período de tempo. Além disso, verifica-se que tanto a humidade como a temperatura são modeladas pelas condições atmosféricas exteriores, indicando que sala de armazenamento não é devidamente isolada (ANEXO II).

Considerando que as condições ótimas indicadas de armazenamento dos condimentos são de humidade relativa inferior a 60% e temperatura abaixo dos 20 °C constata-se que a sala de armazenamento não possui as condições ideais (Belitz, Schieberle e Grosch, 2009). Apesar de apenas no final do estudo (abril/maio) existirem temperaturas superiores a 20 °C prevê-se que com o avançar das estações do ano estes valores terão tendência a elevar. Esta situação aliada a dias de alta humidade pode colocar em risco os produtos e deve continuar a ser monitorizado.

3.2.Produtos

De seguida irão ser apresentados todos os resultados relativos aos produtos estudados, nomeadamente dos estudos de atividade de água, pH, microbiologia, quantificação de ácido ascórbico, atividade antioxidante, cor e análise sensorial.

3.2.1. Mix para afiambrados



O *Mix para afiambrados* (Figura 7), como anteriormente referido, é um produto em pó constituído por aditivos, especiarias e aromas. A este produto foi analisada a variação de atividade de água e pH, foi efetuado controlo microbiológico, feito de estudo de colorimetria e foi quantificado o ácido ascórbico ao longo do tempo.

Figura 7 – *Mix para afiambrados*.

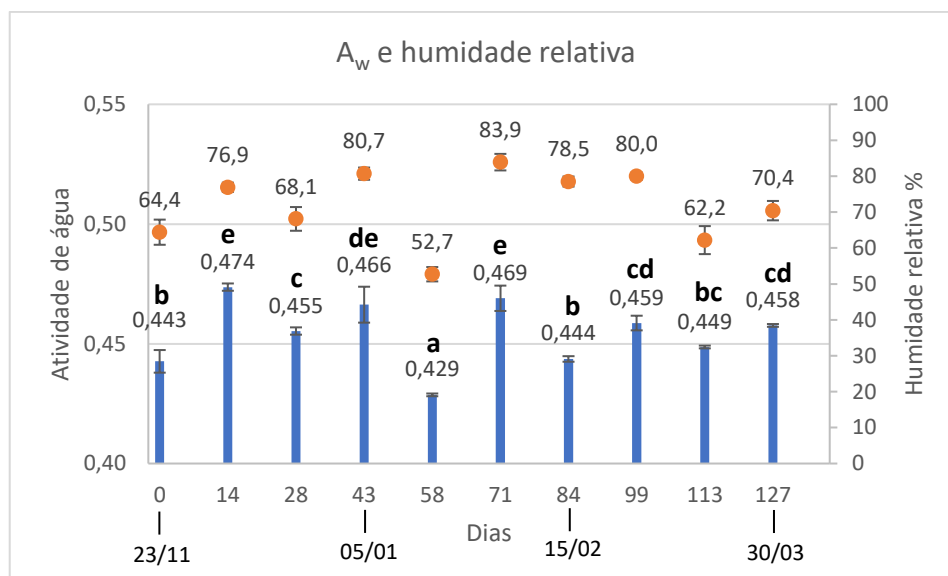


Figura 8 – Atividade de água do produto *Mix para afiambros*, ao longo do tempo, com a correspondente média de humidade das 12h anteriores à recolha. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

Observando a Figura 8 verifica-se que o *Mix para afiambros*, ao longo do tempo de estudo, apresentou uma atividade de água variável entre 0,429 e 0,474, sendo que as alterações na atividade da água deste produto são estatisticamente significativas. Além disso, comparando a evolução da atividade de água com a humidade registada na sala de armazenamento observa-se uma tendência para uma correlação entre ambas ($R^2 = 0,62$). De tal modo que usualmente quando a humidade da sala aumenta, a atividade da água do produto aumenta e vice-versa. Tendo em conta estes valores de a_w será de esperar que reações de oxidação lipídica, acastanhamento não enzimático e a atividade enzimática, sejam reduzidas. Além disso, o crescimento microbiano deveria ser também praticamente nulo (Belitz, Schieberle e Grosch, 2009).

Relativamente ao pH, na Figura 9 verifica-se uma oscilação entre 6,45 e 6,61 ao longo do estudo, estando concordante com o indicado na ficha técnica (FT) - de 6,50. De notar que se verificam diferenças estatisticamente significativas de pH, comparativamente ao valor inicial, a partir dos 127 dias de estudo, mas sem consequências aparentes nas características organoléticas no produto.

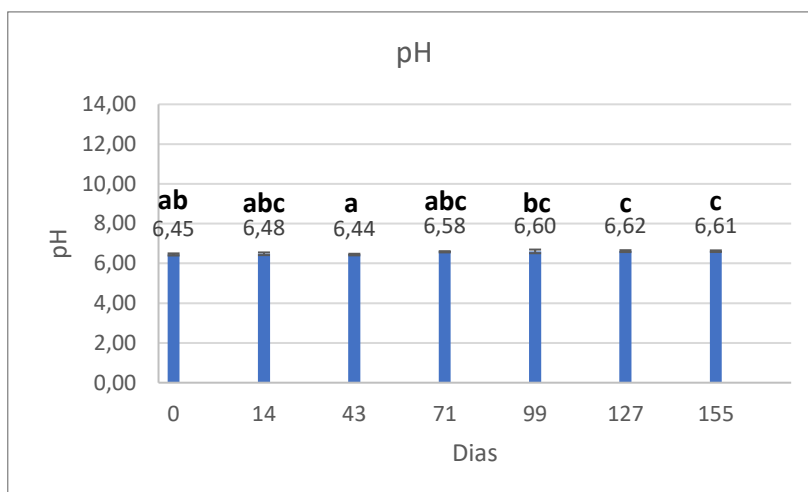


Figura 9 – Valores de pH, ao longo do tempo, do produto *Mix para afiambrados*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

Microbiologicamente, o *Mix para afiambrados* demonstrou possuir reduzidas contagens iniciais de bolores e leveduras, microrganismos a 30 °C e enterobactérias, corroborando o anteriormente referido. Além disso, analisando a Figura 10 verifica-se, que na maioria das análises, as contagens destes parâmetros ao longo do tempo de estudo são inferiores a 1,00 log₁₀ ufc/g. No entanto, é de salientar uma contagem, aos 91 dias, de bolores e leveduras de 2,38 log₁₀ ufc/g e de microrganismos a 30 °C, aos 64 dias, de 4,00 log₁₀ ufc/g, que poderão ser atribuídas a possíveis contaminações aquando do ensaio microbiológico.

Analisando a Figura 11, relativa à análise microbiológica de patogénicos efetuada no fim do estudo, verifica-se que o *Mix para afiambrados* não possui presença de *Salmonella* e apresenta reduzidas contagens (<1,00 log₁₀ ufc/g) de *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus coagulase positiva*.

Estes resultados estão abaixo dos valores guia sugeridos pela FT do produto – 2 a 3 log₁₀ ufc/g, bem como abaixo dos sugeridos pela recomendação da comissão europeia 2004/24/CE e outra bibliografia (Comissão Europeia, 2004; Food Administration, 1995; Food Standards Australia New Zealand, 2016) (valores no ANEXO III). Apesar do pH deste produto ter oscilado entre 6,45 e 6,61 e estes valores serem favoráveis ao crescimento microbiano, verificou-se que não teve impacto na qualidade microbiológica do produto.

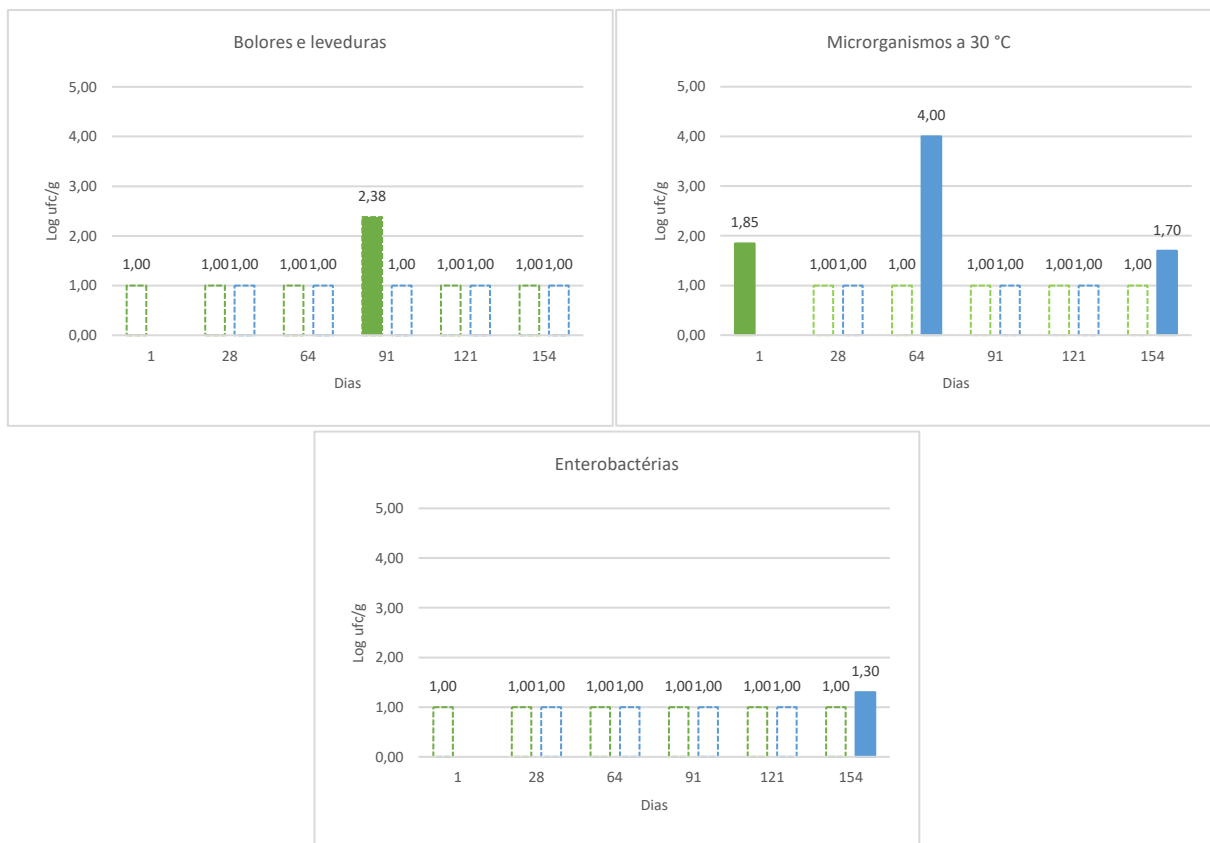


Figura 10 – Resultados microbiológicos, ao longo do tempo, de duas réplicas (■ *Réplica 1* e ■ *Réplica 2*) para o produto *Mix para afiambrados* relativamente a bolores e leveduras, microrganismos a 30°C e enterobactérias. Resultados de 1,00 log₁₀ ufc/g deverão ser considerados <1,00 log₁₀ ufc/g.

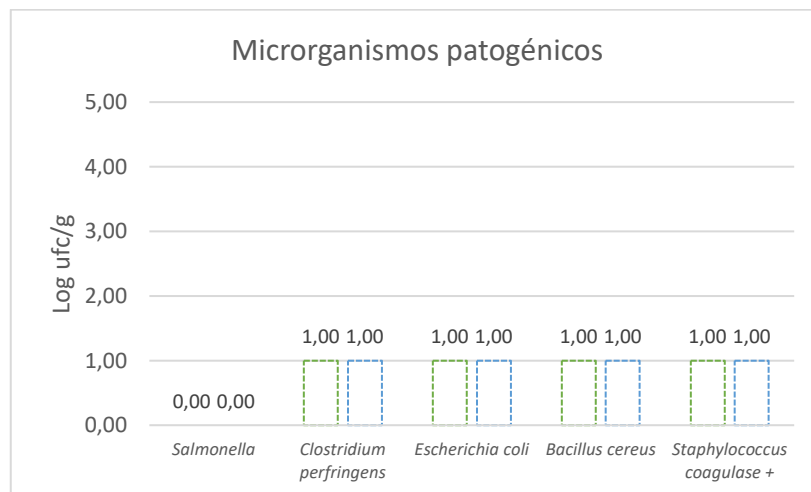


Figura 11 – Resultados microbiológicos, de duas réplicas (■ *Réplica 1* e ■ *Réplica 2*), do produto *Mix para afiambrados* relativos a microrganismos patogénicos. Resultados de 1,00 log₁₀ ufc/g deverão ser considerados <1,00 log₁₀ ufc/g.

Tendo o *Mix para afiambrados* na sua constituição aditivos como ácido ascórbico (E330) e ascorbato de sódio (E331) foi relevante quantificar a sua quantidade ao longo do tempo. Deste modo, na Figura 12 é possível observar a quantidade de ácido ascórbico no *Mix para afiambrados* ao longo do tempo de estudo. Verifica-se que inicialmente existiam aproximadamente 8 g de ácido ascórbico em 100 g de produto, havendo uma diminuição significativa desta molécula no 3º mês de estudo para 6,26 g e novamente no 4º mês para 5,50 g. Esta descida poderá ser justificada por possíveis reações de acastanhamento de ácido ascórbico ou pelo facto de este estar a exercer a sua atividade antioxidante. Este decréscimo de ácido ascórbico poderá pôr em causa a sua função tecnológica. O aparente aumento do teor de ácido ascórbico no 2º mês de estudo poderá estar relacionado com a extrema baixa atividade de água do produto encontrada aos 58 dias de estudo.

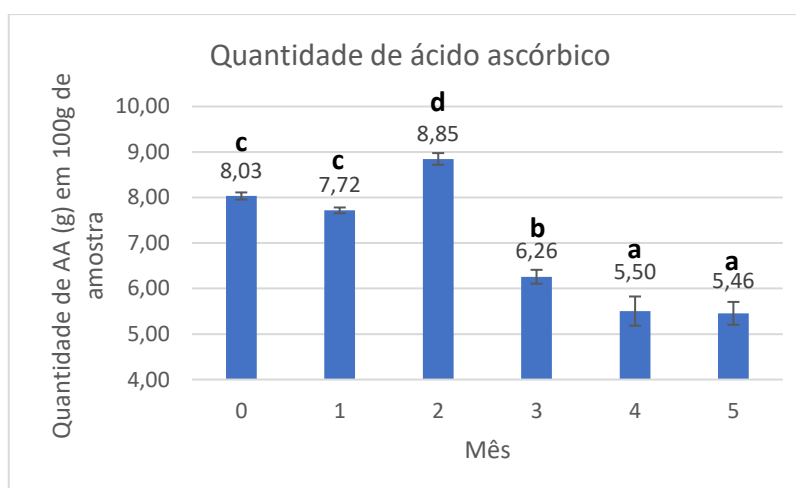


Figura 12 – Evolução da quantidade de ácido ascórbico (g) em 100g do produto *Mix para afiambrados*, ao longo do tempo. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

Foi também importante analisar a cor ao longo do tempo de estudo de maneira a analisar se esta sofria alterações. Na Figura 13 observam-se as diferenças totais de cor comparativamente ao controlo. Verifica-se que apenas no final do estudo é que houve uma alteração estatisticamente significativa de cor, no entanto, aos 75 dias já houve uma ligeira diferença de cor. Esta alteração foi observada pela redução de luminosidade e pela diminuição da intensidade de vermelho, e tal poderá indicar que acontecem algumas reações químicas (ANEXO IV - Figura 72 a Figura 75). No entanto, visto que este produto não é utilizado para dar cor, esta alteração tem pouca relevância para o contexto de empresa sem menosprezar as reações químicas que daí advém.

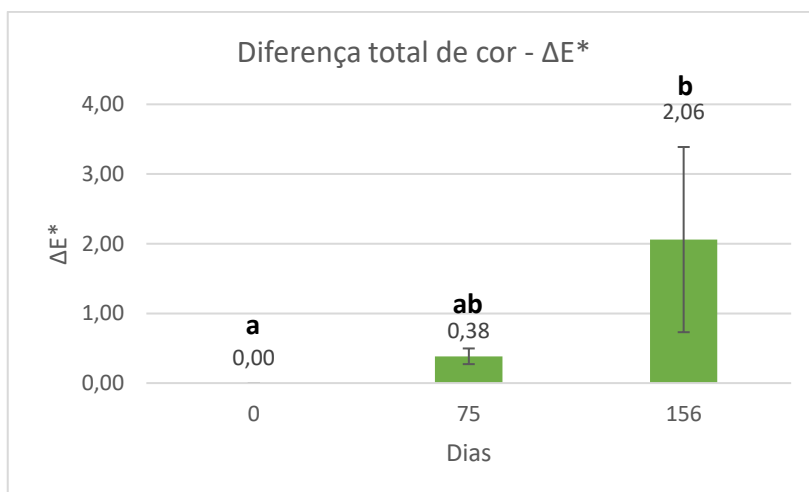


Figura 13 – Diferença total de cor, ao longo do tempo, do produto *Mix para afiambrados*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

3.2.2. Mix de mortadela



O produto *Mix de mortadela* é uma mistura constituída por especiarias, dextrose e monoglutamato monossódico. À semelhança do produto anterior, também o *Mix de mortadela* foi analisado em termos de atividade de água, pH, microbiologia e alterações de cor.

Figura 14 – *Mix de mortadela*

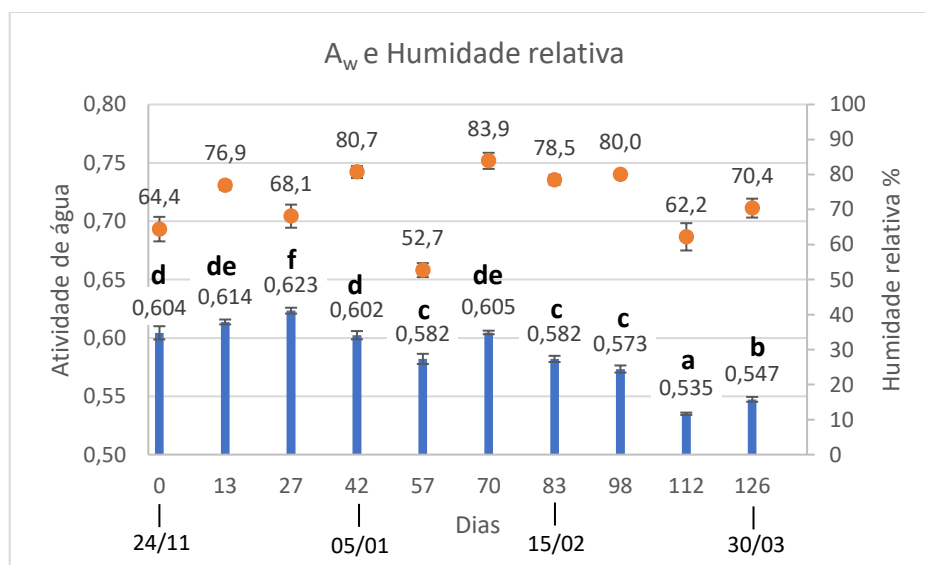


Figura 15 – Atividade de água do produto *Mix de mortadela*, ao longo do tempo, com a corresponde média de humidade das 12h anteriores à recolha. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

Analisando a Figura 15 verifica-se que existem bastantes alterações significativas na atividade de água do produto ao longo do tempo. A atividade de água variou entre 0,535 e 0,623 não sendo muito evidente uma correlação entre a humidade da sala e a atividade de água do produto, contudo o produto parece ter uma tendência para diminuir a sua atividade de água ao longo do tempo ($R^2 = 0,08$).

Relativamente ao pH, na Figura 16 observa-se que este parâmetro variou de 5,71 a 5,85. As variações não foram significativas exceto aos 42 dias em que o pH atingiu o seu máximo, tendo uma diferença significativa comparativamente ao controlo. Estes valores estão ligeiramente abaixo de 6,00, valor indicado na FT.

Tanto os valores de atividade de água como de pH indicam condições favoráveis ao crescimento microbiano, e de facto, analisando a Figura 17, verifica-se que este produto tem uma carga microbiana considerável.

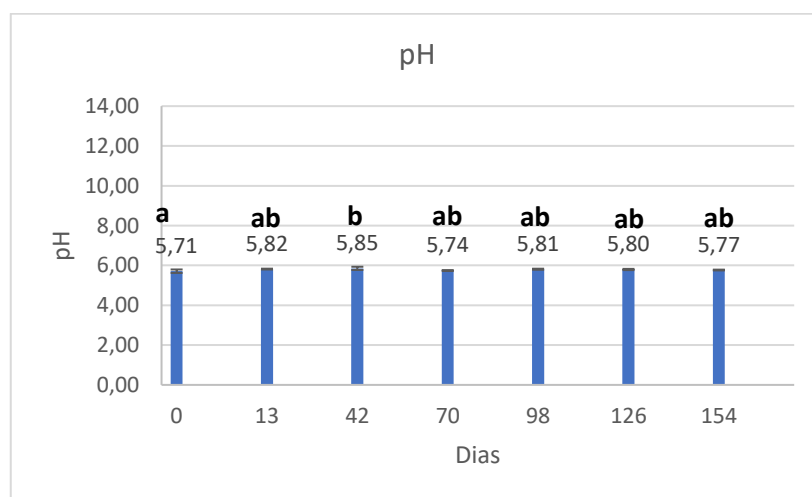


Figura 16 – Valores de pH, ao longo do tempo, do produto *Mix de mortadela*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

Em relação ao teor de bolores e leveduras verificam-se sempre valores entre 3,48 \log_{10} ufc/g, e 3,98 \log_{10} ufc/g estando dentro dos valores guia definidos na FT (5 – 6 \log_{10} ufc/g).

No que respeita aos microrganismos a 30 °C observa-se valores elevados variando entre 4,90 \log_{10} ufc/g e 6,83 \log_{10} ufc/g, constata-se ainda um ligeiro aumento ao longo do tempo com um pico máximo no fim do estudo, aos 153 dias. No que se refere às enterobactérias, é possível verificar que os valores são próximos dos 3,00 \log_{10} ufc/g. No

entanto é de salientar a existência de réplicas aos 63, 90 e 120 dias com valores inferiores a 1,00 log₁₀ ufc/g. Além disso verifica-se que na última análise, aos 153 dias, os valores de enterobactérias descenderam para 2,00 log₁₀ ufc/g. Comparando estes resultados, verifica-se que relativamente aos microrganismos a 30 °C o mix apresenta valores superiores aos valores guia a partir dos 153 dias de estudo, tendo em conta a bibliografia consultada. De salientar que desde inicio do estudo o produto não preenchia os requisitos em termos de enterobactérias tendo em conta a recomendação 2004/24/CE, no entanto apresenta conformidade se considerarmos outra bibliografia (Comissão Europeia, 2004; Food Administration, 1995; Food Standards Australia New Zealand, 2016). Relativamente aos microrganismos a 30 °C, apenas deixa de ser conforme aos 153 dias de estudo, ou seja, no final do estudo.

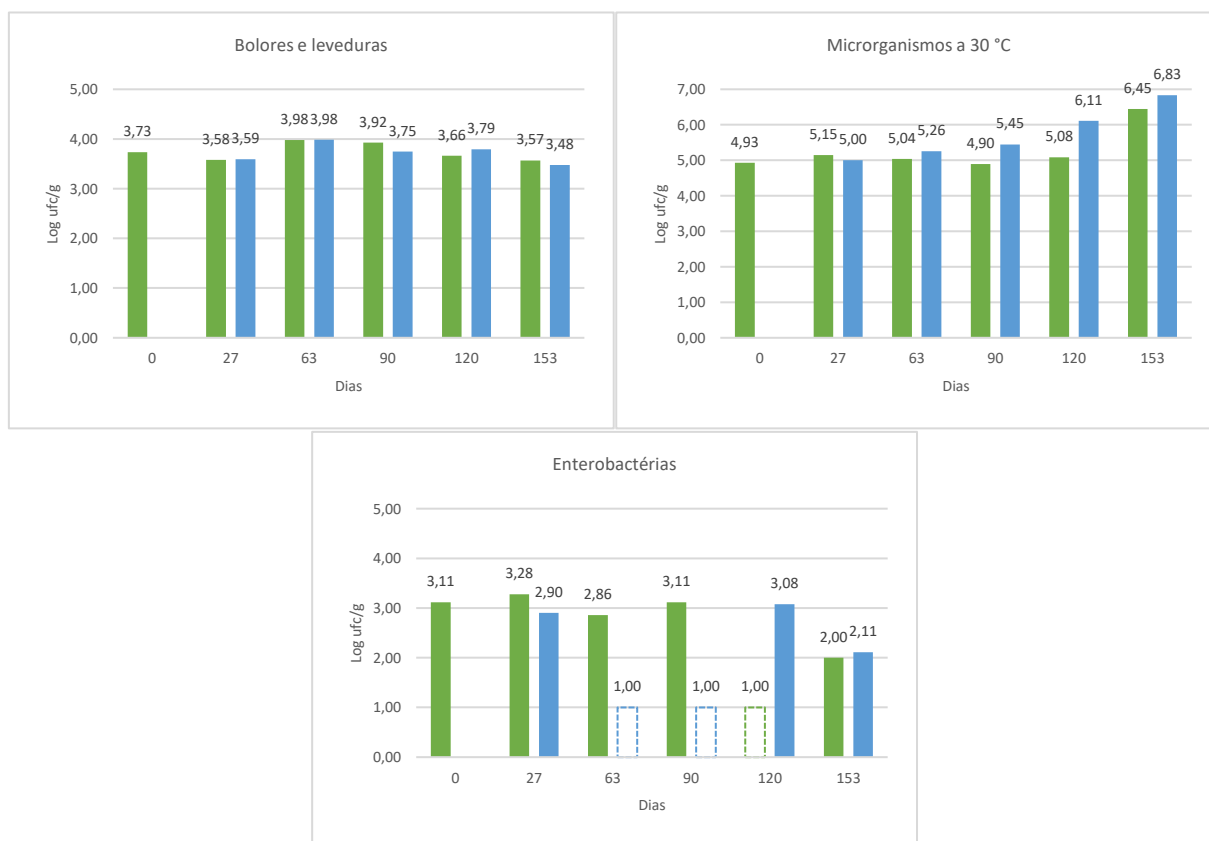


Figura 17 – Resultados microbiológicos, ao longo do tempo, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2) para o produto *Mix de mortadela* relativamente a bolores e leveduras, microrganismos a 30°C e enterobactérias. Resultados de 1,00 log₁₀ ufc/g deverão ser considerados <1,00 log₁₀ ufc/g.

No que diz respeito à avaliação de patogénicos no final do estudo (Figura 18), observa-se que este produto não apresenta *Salmonella* e exibe reduzidas contagens ($<1,00 \log_{10} \text{ufc/g}$) de *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus coagulase positiva* apresentando conformidade microbiológica.

É importante referir que esta a mistura é utilizada em produtos como o salame, que não sofre qualquer processamento térmico, no entanto devido ao efeito *hurdle* (baixos pH e a_w) que utilizados neste este tipo de produtos, à priori, não será expectável problemas microbiológicos. No entanto, seria interessante fazer um estudo em que se relacionasse a carga microbiana do *Mix de mortadela* com a carga microbiana no produto final.

Tendo em conta a a_w observada seria de esperar algumas reações de oxidação lipídica e acastanhamento não enzimático aumentadas (Belitz, Schieberle e Grosch, 2009). No entanto, verificou-se que o índice de acastanhamento não teve um aumento significativo. (ANEXO IV - Figura 76 à Figura 79).

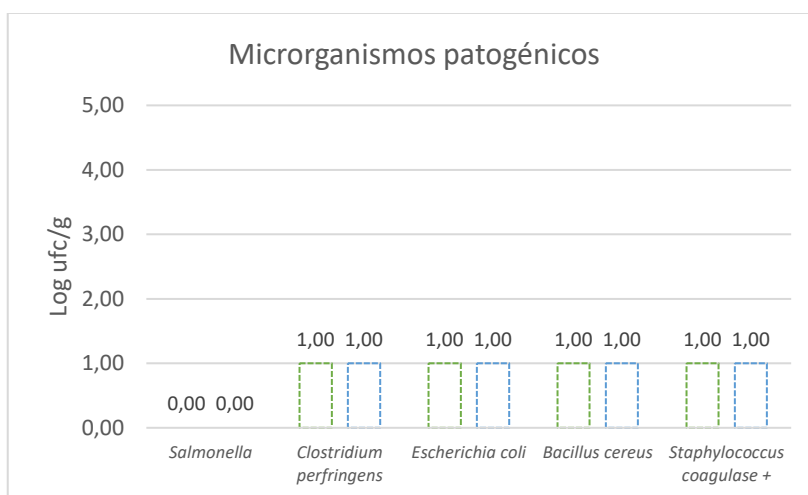


Figura 18 – Resultados microbiológicos, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2), do produto *Mix de mortadela* relativos a microrganismos patogénicos. Resultados de $1,00 \log_{10} \text{ufc/g}$ deverão ser considerados $<1,00 \log_{10} \text{ufc/g}$.

Relativamente ao estudo da cor, na Figura 19, verificam-se ligeiras diferenças aos 75 e 155 dias relativamente ao controlo, estas com significância estatística, mas que poderão ser desconsideradas do ponto de vista sensorial pelo propósito do produto na empresa.

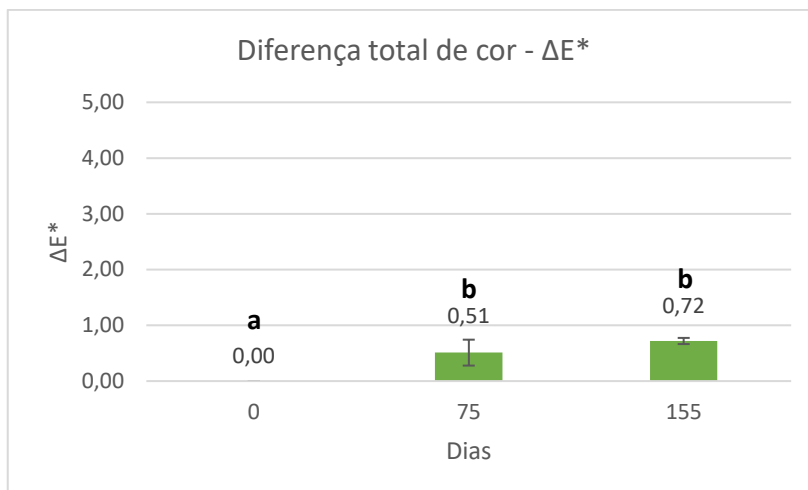


Figura 19 – Diferença total de cor, ao longo do tempo, do produto *Mix de mortadela*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

3.2.3. Mistura de ervas

A *Mistura de ervas*, como referido anteriormente é uma mistura de cenoura, cebola, aipo, alho-porro e salsa. Foi avaliada em termos de atividade de água, pH, microbiologia, colorimetria e análise sensorial.

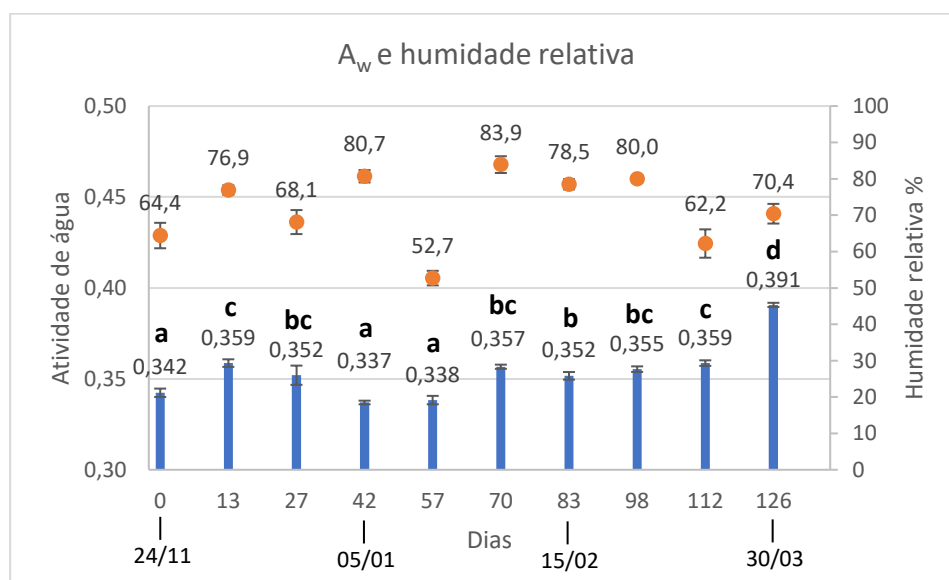


Figura 20 – Atividade de água do produto *Mistura de ervas*, ao longo do tempo, com a corresponde média de humidade das 12h anteriores à recolha. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

Na Figura 20 são evidenciados os resultados relativos à atividade de água deste produto. Observa-se que esta varia entre 0,338 e 0,391 havendo assim algumas diferenças estatisticamente significativas ao longo do tempo. Neste produto não se verifica evidentemente uma correlação entre o aumento/diminuição da humidade com o aumento/diminuição da atividade de água, embora por vezes esse cenário ocorra ($R^2 = 0,02$).

No que respeita ao estudo de pH (Figura 21) não se verificam alterações significativas ao longo do tempo sendo o valor de pH para este produto entre 5,75 a 5,85, concordante com o indicado na sua FT.

Tendo em conta a atividade de água observada seria de esperar deteriorações químicas reduzidas.

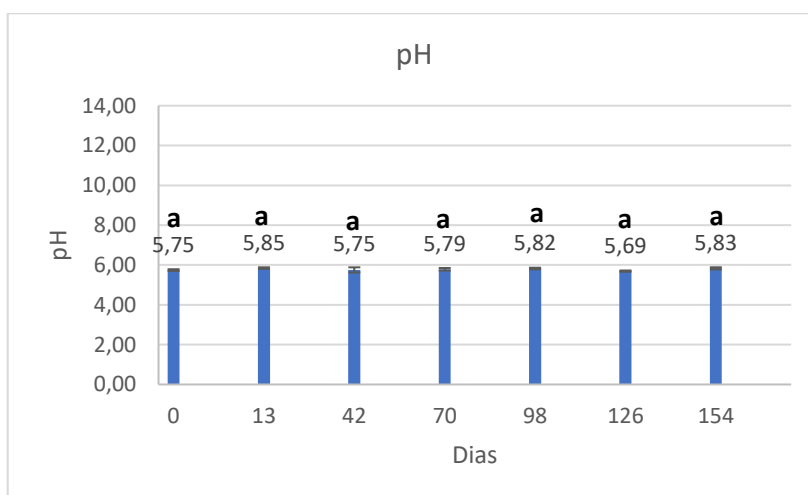


Figura 21 – Valores de pH, ao longo do tempo, do produto *Mistura de ervas*. Diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

Em relação ao controlo microbiológico deste condimento, verificaram-se oscilações no teor de bolores e leveduras, com valores mais elevados aos 90 dias e mais reduzidos aos 63 dias, tendo variado de $<1,00 \log_{10} \text{ufc/g}$ a $3,57 \log_{10} \text{ufc/g}$. De salientar que existe relativa variância nas contagens de bolores e leveduras que poderão advir da falta de homogeneidade da amostra. Quanto aos microrganismos a 30°C é notório um incremento ao longo do tempo, tendo aumentado de $3,04 \log_{10} \text{ufc/g}$ para $5,66 \log_{10} \text{ufc/g}$ no final do estudo. Tendo em conta estes valores, constata-se que não se põe em causa a conformidade microbiana tendo em conta a bibliografia existente (Comissão Europeia, 2004; Food Administration, 1995; Food Standards Australia New Zealand, 2016).

Relativamente às enterobactérias verificaram-se contagens inferiores a 1,00 log₁₀ ufc/g com exceção de uma réplica aos 90 dias e outra réplica aos 153 dias (2,00 e 2,11 log₁₀ ufc/g respetivamente). Deste modo, o produto apresentou valores conformes, excetuando uma análise que ultrapassa em 0,11 log₁₀ ufc/g o valor guia referido na recomendação 2004/24/CE (Comissão Europeia, 2004). Quanto ao estudo de microrganismos patogénicos verificou-se a ausência de *Salmonella* e contagens inferiores a 1,00 log₁₀ ufc/g para os restantes avaliados, estando conforme com a sua FT, recomendação 2004/24/CE e bibliografia existente (Comissão Europeia, 2004; Food Administration, 1995; Food Standards Australia New Zealand, 2016).

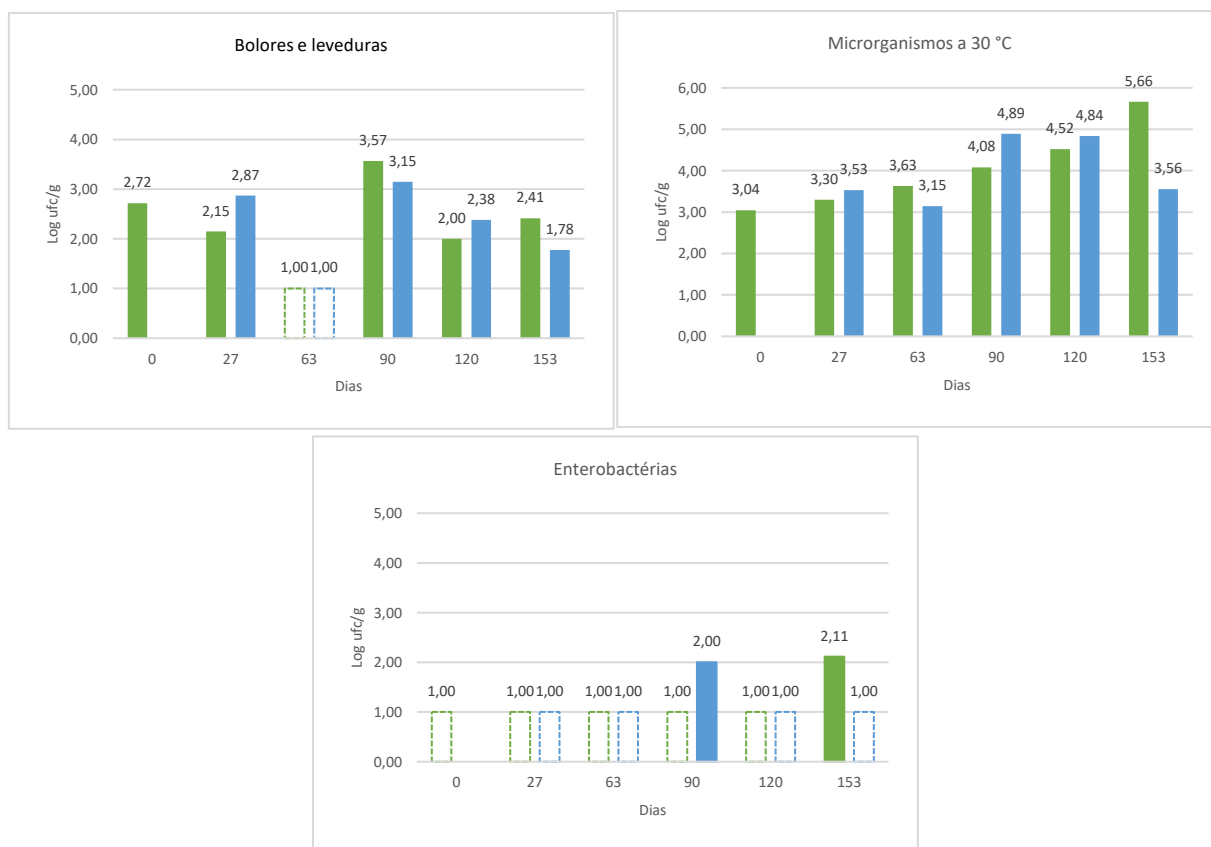


Figura 22 – Resultados microbiológicos, ao longo do tempo, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2) para o produto *Mistura de ervas* relativamente a bolores e leveduras, microrganismos a 30°C e enterobactérias. Resultados de 1,00 log₁₀ ufc/g deverão ser considerados <1,00 log₁₀ ufc/g.

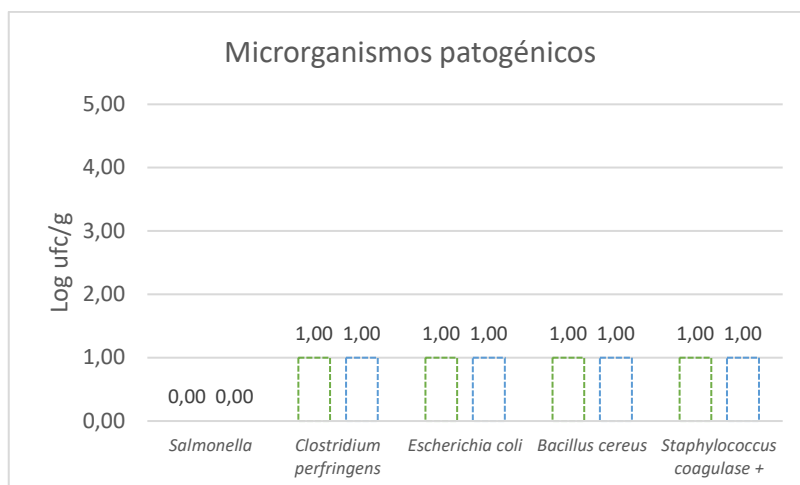


Figura 23 – Resultados microbiológicos, de duas réplicas (■ *Réplica 1* e ■ *Réplica 2*), do produto *Mistura de ervas* relativos a microrganismos patogénicos. Resultados de 1,00 log₁₀ ufc/g deverão ser considerados <1,00 log₁₀ ufc/g.

No estudo de colorimetria, cujos resultados são apresentados na Figura 25, verificou-se uma grande diferença de cor aos 75 dias com significado estatístico (comparativamente ao controlo), tendo essa diferença diminuído aos 155 dias, sem diferença estatística da medição anterior. Não existiram quaisquer diferenças significativas nos diversos fatores analisados (L*a*b* e BI) (ANEXO IV - Figura 80 à Figura 83). Contudo, os valores apresentam desvios-padrão consideráveis, derivados da grande heterogeneidade da amostra,



como demonstrado na Figura 24. Seria interessante fazer uma análise sensorial desta mistura, no produto final, por forma a verificar se o consumidor consegue perceber a diferença de cor no produto final e se isso teria impacto negativo para o mesmo.

Figura 24 – Mistura de ervas.

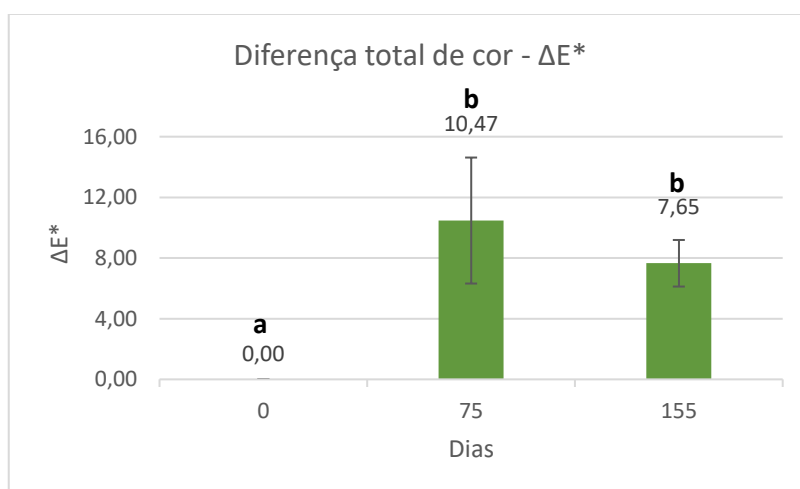


Figura 25 – Diferença total de cor, ao longo do tempo, do produto *Mistura de ervas*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

Com o objetivo de perceber se com o tempo de abertura a *Mistura de ervas* perdia propriedades organoléticas, foi efetuada uma análise sensorial de acordo com o descrito no tópico anterior. Os resultados, expressos na Figura 26, evidenciam que houve uma maior quantidade de pessoas que não conseguiu identificar se amostras eram iguais ou diferentes, sendo que 8 pessoas responderam que amostras eram diferentes quando estas eram iguais e apenas 3 responderam que eram iguais quando as amostras eram diferentes. Na verdade, parece haver uma predisposição das pessoas a assumirem que a amostra é sempre diferente, visto que das 20 pessoas inquiridas, 15 pessoas consideraram que amostras eram diferentes tendo apenas 7 conseguido efetivamente identificar as amostras diferentes. Tendo em isto em conta, parece que as pessoas não conseguem encontrar verdadeiras diferenças no aroma do produto.

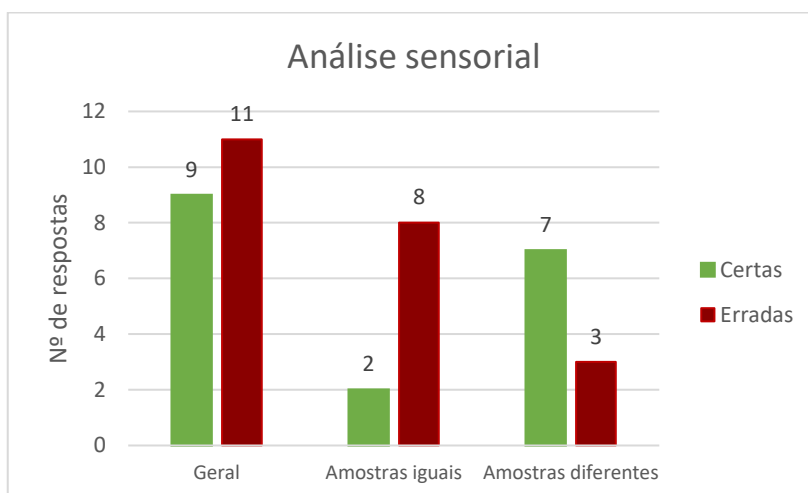


Figura 26 – Número de respostas certas e erradas no geral e para amostras que eram iguais ou diferentes relativas ao produto *Mistura de ervas*.

3.2.4. Mix extensor

O *Mix extensor* é um extrusado em tiras de uma mistura de glúten de trigo, farinha de soja, proteína de soja isolada, farinha de trigo e farelo de arroz. A sua conservação foi acompanhada em termos de atividade de água, pH, estabilidade microbiológica e alterações de cor.

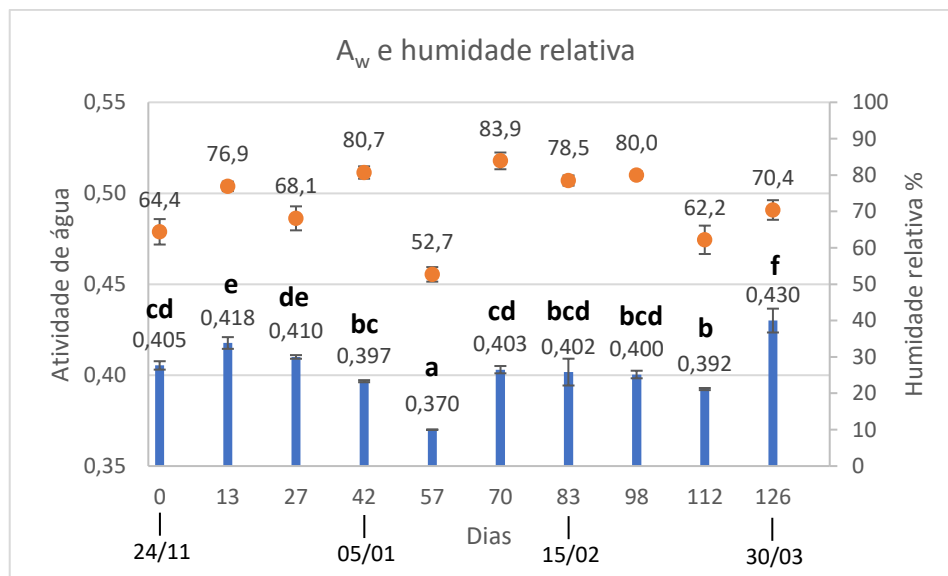


Figura 27 – Atividade de água do produto *Mix extensor*, ao longo do tempo, com a corresponde média de humidade das 12h anteriores à recolha. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

No que diz respeito à evolução da atividade de água deste produto, analisando a Figura 27 verifica-se que existiram oscilações significativas sendo que houve variações entre 0,370 e 0,430 das quais algumas são passíveis de se relacionar com a oscilação de humidade relativa na sala de armazenamento ($R^2 = 0,20$).

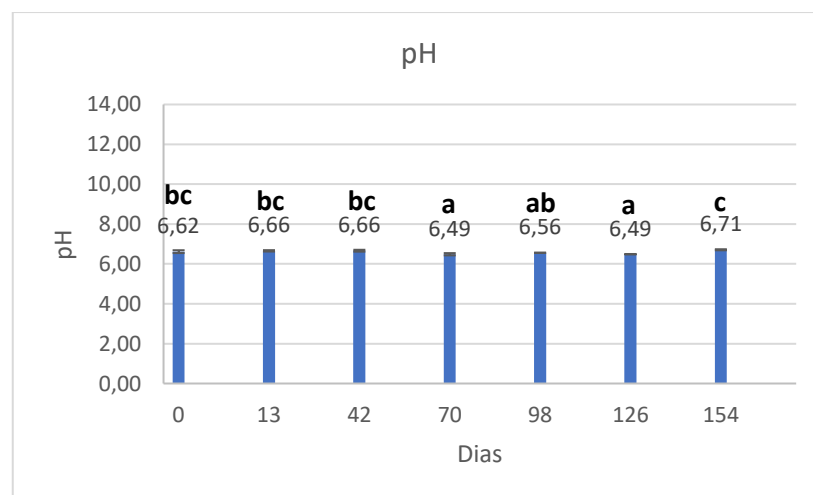


Figura 28 – Valores de pH, ao longo do tempo, do produto *Mix extensor*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

Relativamente ao estudo do pH, existe uma variação entre 6,49 e 6,70, os quais estão de acordo com os valores referência na FT, havendo algumas diferenças estatisticamente significativas em relação ao controlo aos 70, 126 e 154 dias (Figura 28). Esta diferença de pH, à partida não trará consequências no produto processado em que é utilizado.

Em relação ao estudo microbiológico deste produto evidenciado na Figura 29 e na Figura 30, verificaram-se contagens reduzidas de bolores e leveduras, com um ligeiro aumento aos 90 e 120 dias. Quanto aos microrganismos a 30 °C existe uma variação entre $<1,00 \log_{10} \text{ ufc/g}$ e $2,51 \log_{10} \text{ ufc/g}$, havendo este pico aos 90 dias de estudo. Por último verificou-se que tanto para as contagens de enterobactérias como de patogénicos os resultados foram $<1,00 \log_{10} \text{ ufc/g}$ com a ausência de *Salmonella*. Estes valores são compatíveis com a sua atividade de água baixa, apresentando assim conformidade microbiológica (Comissão Europeia, 2004; Food Administration, 1995; Food Standards Australia New Zealand, 2016).



Figura 29 – Resultados microbiológicos, ao longo do tempo, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2) para o produto *Mix extensor* relativamente a bolores e leveduras, microrganismos a 30°C e enterobactérias. Resultados de $1,00 \log_{10} \text{ ufc/g}$ deverão ser considerados $<1,00 \log_{10} \text{ ufc/g}$.

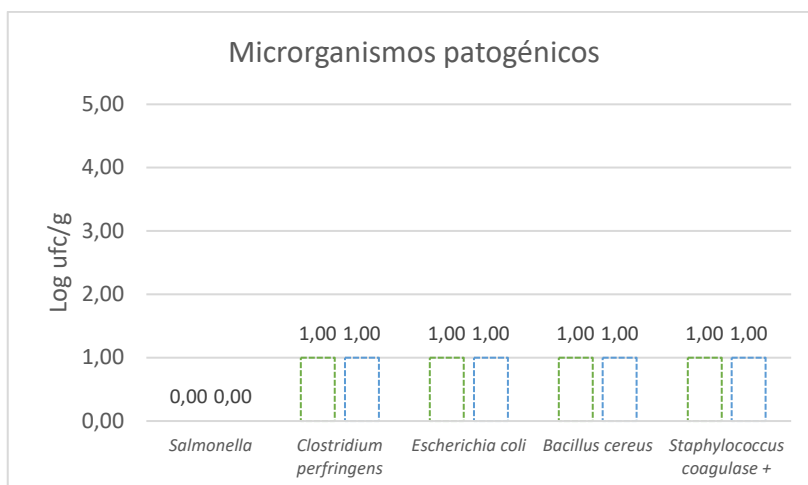


Figura 30 – Resultados microbiológicos, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2), do produto *Mix extensor* relativos a microrganismos patogénicos. Resultados de 1,00 log₁₀ ufc/g deverão ser considerados <1,00 log₁₀ ufc/g.

Além do mais, considerando a a_w do produto, será de esperar baixo acastanhamento não enzimático, atividade enzimática e oxidação lipídica (Belitz, Schieberle e Grosch, 2009). Contudo, no que respeita ao índice de acastanhamento parece haver uma ligeira diminuição, mas sem expressão estatística (ANEXO IV - Figura 87).

Os estudos de colorimetria, cujos resultados estão representados na Figura 32, evidenciam uma ligeira alteração de cor com o decorrer do tempo de abertura, sendo apenas essa diferença estatisticamente significativa ao controlo aos 155 dias de estudo. Além do mais, não existem diferenças estatísticas em nenhum dos parâmetros avaliados (ANEXO IV - Figura 84 à Figura 86). Tal pode ser justificado pelos grandes desvios padrão que os resultados apresentam. Este problema poderá ter sido causado pelas sombras que o produto apresentava quando disposto na placa (Figura 31) e poderia ter sido ultrapassada com a moagem do produto.



Figura 31 – *Mix extensor*.

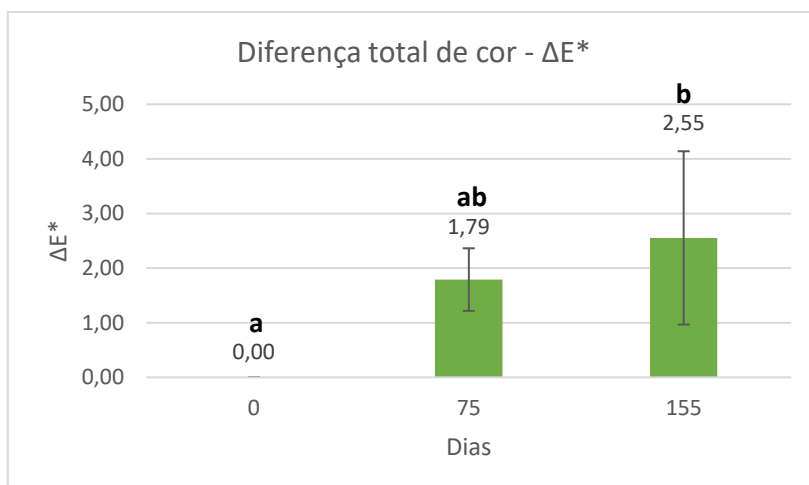


Figura 32 – Diferença total de cor, ao longo do tempo, do produto *Mix extensor*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

3.2.5. Ascorbato de sódio

O ascorbato de sódio é um composto químico utilizado usualmente como antioxidante, sendo um aditivo referenciado como E301. Neste composto foram efetuados estudos de avaliação de atividade de água, pH, quantificação de ácido ascórbico, atividade antioxidante e colorimetria.

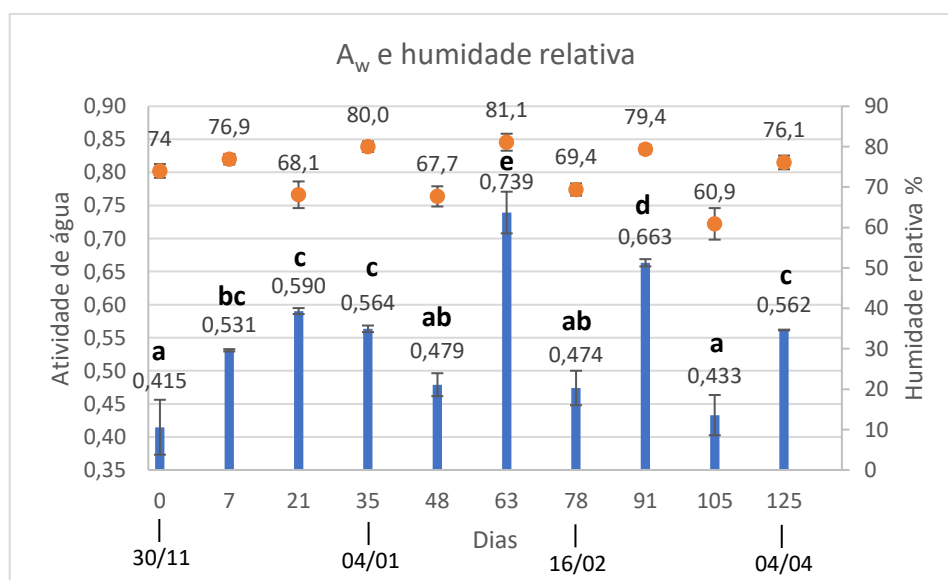


Figura 33 – Atividade de água do produto ascorbato de sódio ao longo do tempo, com a correspondente média de humidade das 12h anteriores à recolha. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

Analisando a Figura 33 verifica-se que o ascorbato de sódio tem grandes variações de atividade de água, estatisticamente significativas, tendo oscilado entre 0,415 e 0,739. Verifica-se uma certa correlação entre a atividade de água e a quantidade de humidade relativa na sala de armazenamento, embora se observe que não é proporcional ($R^2 = 0,45$). No entanto, é inegável a higroscopicidade deste composto.

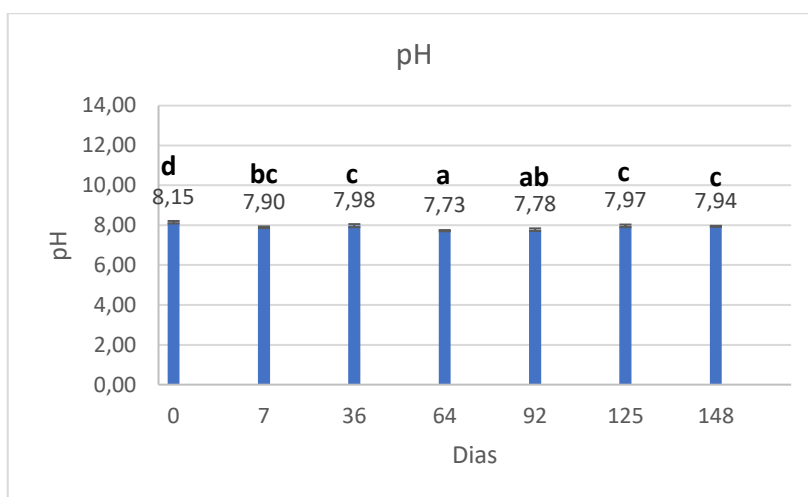


Figura 34 – Valores de pH, ao longo do tempo, do produto ascorbato de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

Relativamente ao estudo do pH (Figura 34) verificou-se que houve pequenas alterações significativas comparativamente ao controlo, havendo oscilações entre 8,15 e 7,73 que correspondem às amostras que apresentaram a atividade de água mais baixa e mais alta, respetivamente. Além disso, estes valores estão de acordo com a sua FT, que indica valores entre 6,50 e 8,00, à exceção da primeira medição.

Na Figura 35 são apresentados os resultados relativos à quantificação de ácido ascórbico ao longo do tempo no ascorbato de sódio. Constata-se que apenas existem diferenças significativas relativas ao controlo a partir do 4º mês, havendo uma redução de aproximadamente 17%. Esta redução poderá ser justificada pela oxidação e acastanhamento do ácido ascórbico (Corzo-Martínez *et al.*, 2012).

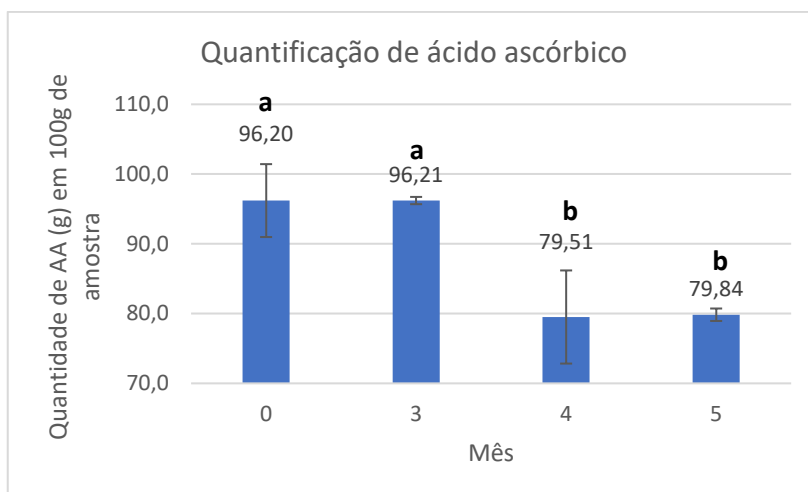


Figura 35 – Evolução da quantidade de ácido ascórbico (g) em 100g do produto ascorbato de sódio, ao longo do tempo. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

Também foi importante analisar se este composto perdia atividade antioxidante ao longo do tempo. Por esse motivo foi efetuado o teste de DPPH para diferentes concentrações de ascorbato de sódio. Observando a Figura 36 verifica-se que apenas existem diminuições significativas de percentagem de DPPH restante, relativamente ao respetivo controlo, ao mês 2 nas concentrações iguais e superiores a 0,5 mM. Além disso, na concentração mais elevada também é verificada uma diferença significativa aos 4 meses, nomeadamente de aumento da percentagem de DPPH restante.

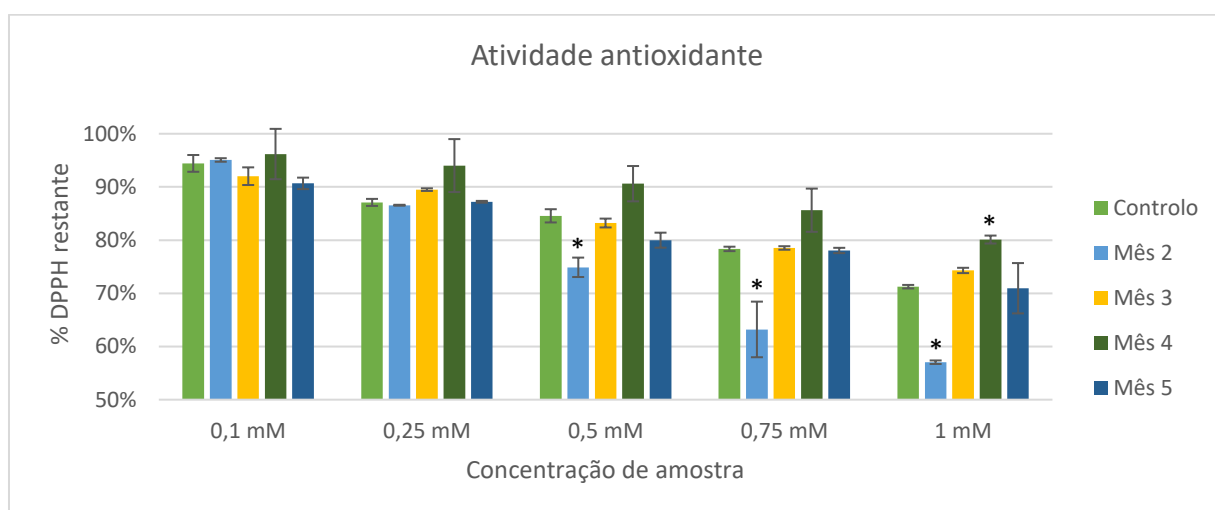


Figura 36 – Percentagem de DPPH restante para as diferentes concentrações de ascorbato de sódio, ao longo do tempo. Resultados com a indicação de * são estatisticamente diferentes do respetivo controlo.

Tendo em conta o estudo de quantificação de ácido ascórbico, devido à descida deste composto ao 4º mês, seria de esperar que a atividade antioxidante também diminuísse. De facto, tal é verificado no estudo de atividade antioxidante para a concentração de 1 mM, visto que há um aumento da percentagem de DPPH restante, indicando uma menor capacidade antioxidante do ascorbato de sódio. No entanto, os resultados da atividade antioxidante são pouco conclusivos devido à incoerência dos mesmos, visto haver aumento significativo da atividade antioxidante no 2º mês, e por haver apenas significância estatística nas concentrações mais altas.

No que respeita aos estudos de colorimetria verifica-se que houveram alterações reduzidas, mas significativas de cor (Figura 37) em todos os parâmetros analisados (ANEXO IV - Figura 88 à Figura 90). Além disso, é de notar na Figura 39 que existiu um aumento do índice de acastanhamento com significado estatístico corroborando assim a hipótese de estar a ocorrer acastanhamento do ascorbato de sódio ao longo do tempo, sendo este visível a olho nu (Figura 38)

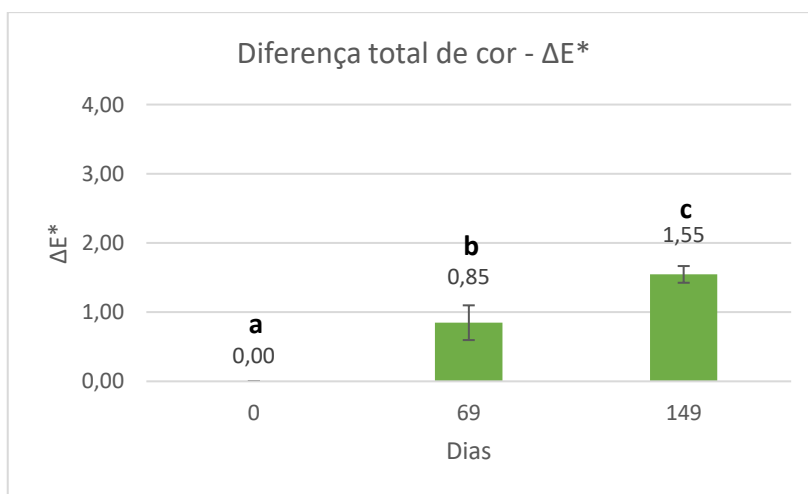


Figura 37 – Diferença total de cor, ao longo do tempo, do produto ascorbato de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

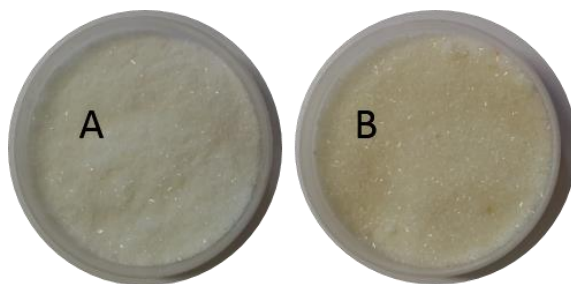


Figura 38 – Ascorbato de sódio no início (A) e no fim do estudo (B).

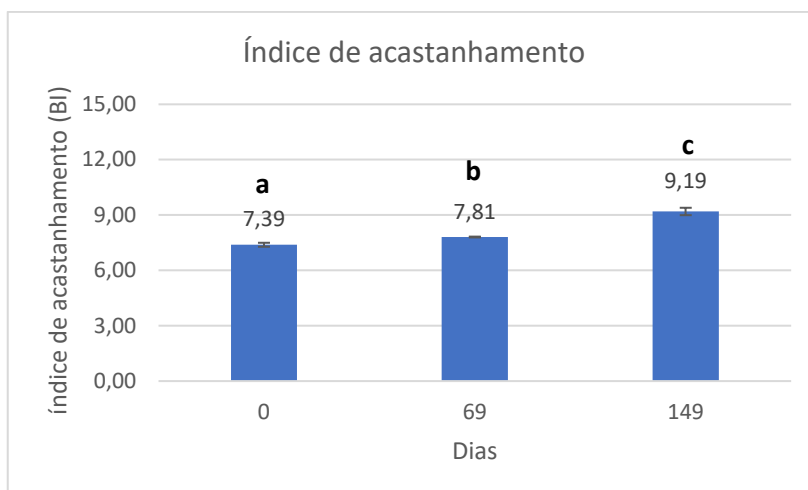


Figura 39 – Índice de acastanhamento, ao longo do tempo, do ascorbato de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

3.2.6. Metabissulfito de sódio

O metabissulfito de sódio, como anteriormente referido, é um aditivo utilizado com conservante referenciado como E223. Neste composto foi avaliada a atividade de água e pH, foi estudada a sua atividade antimicrobiana e foram efetuados estudos de colorimetria.

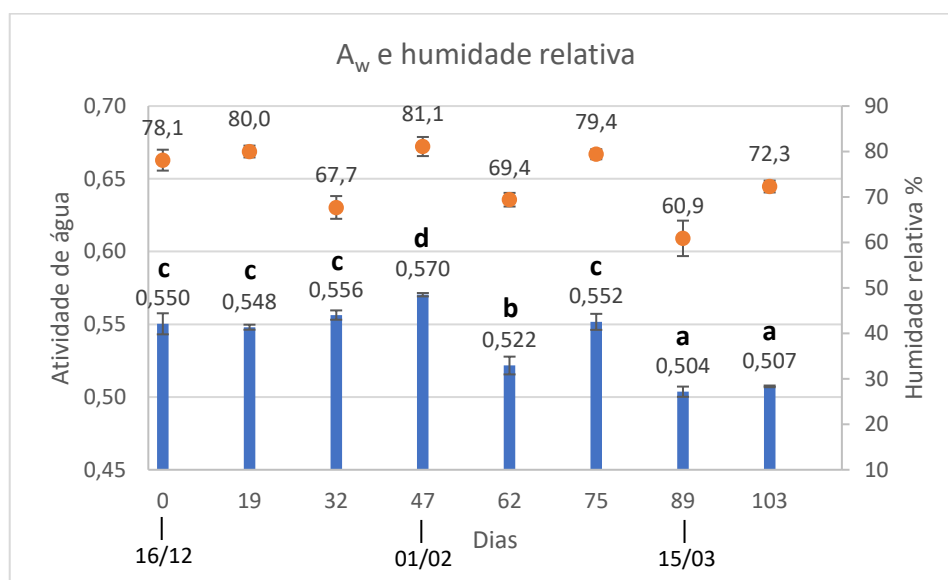


Figura 40 – Atividade de água do produto metabissulfito de sódio ao longo do tempo, com a corresponde média de humidade das 12h anteriores à recolha. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

Na Figura 40 são apresentados os resultados relativos à variação de atividade de água ao longo do tempo. Verifica-se que este produto tem uma atividade de água entre 0,522 e 0,570, possuindo assim algumas diferenças estatisticamente significativas durante o tempo

de estudo. Observou-se que algumas variações de atividade de água variam de acordo com o aumento/diminuição da humidade relativa do ar ($R^2 = 0,50$).



Figura 41 – Metabissulfito de sódio

No que toca ao estudo de pH, verifica-se que este variou entre 3,77 e 4,19. É de notar que entre 32 e os 118 dias não houve diferenças estatisticamente significativas, sendo que apenas o pH na 1ª medição e na última são estatisticamente diferentes. Tendo em conta os resultados verifica-se que na maior parte do estudo o pH situou-se abaixo ao definido na sua FT (pH entre 4,0 e 5,5).

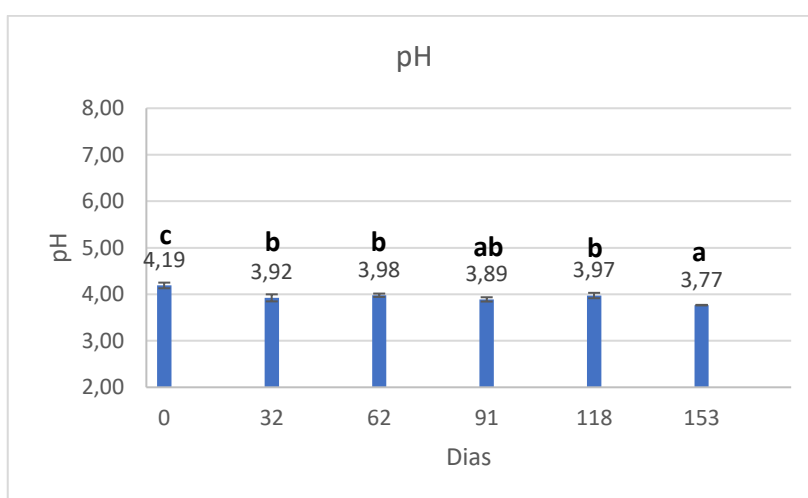


Figura 42 – Valores de pH, ao longo do tempo, do produto metabissulfito de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

Dado que o metabissulfito é um conservante, foi importante avaliar se a sua capacidade antimicrobiana era perdida ao longo do tempo. Embora tenha sido feito um estudo sem expressão quantitativa, verifica-se, analisado a Figura 43, que há um aumento da atividade antimicrobiana ao longo do tempo. No entanto, com estes resultados de carácter qualitativo pode-se apenas constatar que o metabissulfito possui sempre atividade antimicrobiana ao longo do estudo. Os estudos efetuados para o *Bacillus subtilis* a diferentes pHs e para o *Micrococcus luteus* revelaram sempre 0 mm de inibição. O aumento na atividade antimicrobiana talvez poderá ser relacionado com o decréscimo de pH que o produto sofre.

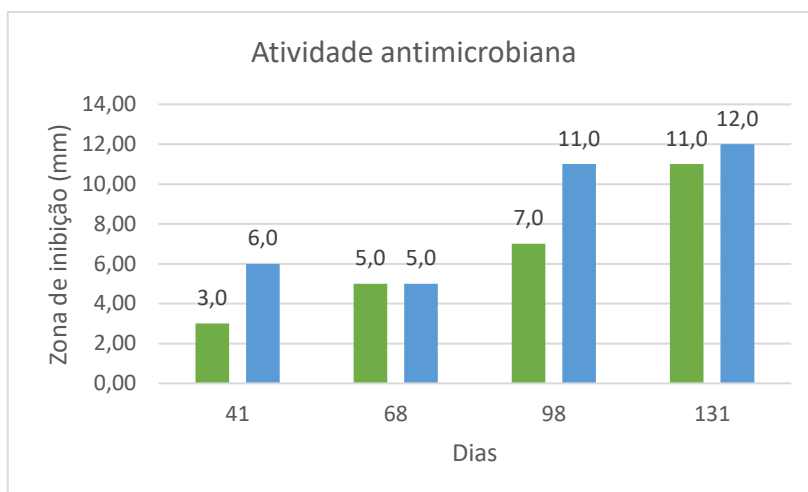


Figura 43 – Zona de inibição (mm) do metabissulfito de sódio, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2), pelo método das 4 placas na incubação com *Bacillus subtilis* a pH 6.

No que diz respeito aos estudos de colorimetria, verifica-se que o metabissulfito sofreu uma ligeira alteração de cor com significado estatístico aos 75 dias, tendo-se mantido esta diferença no restante tempo de estudo (Figura 44), nomeadamente nos parâmetros L^* , a^* e b^* , bem como no índice de acastanhamento (ANEXO IV - Figura 91 à Figura 94). No entanto, visto que não é utilizado como função de corante este aspeto tem pouca relevância para a empresa, não desprezando quaisquer reações químicas que poderão estar na origem nestas ligeiras alterações de cor.

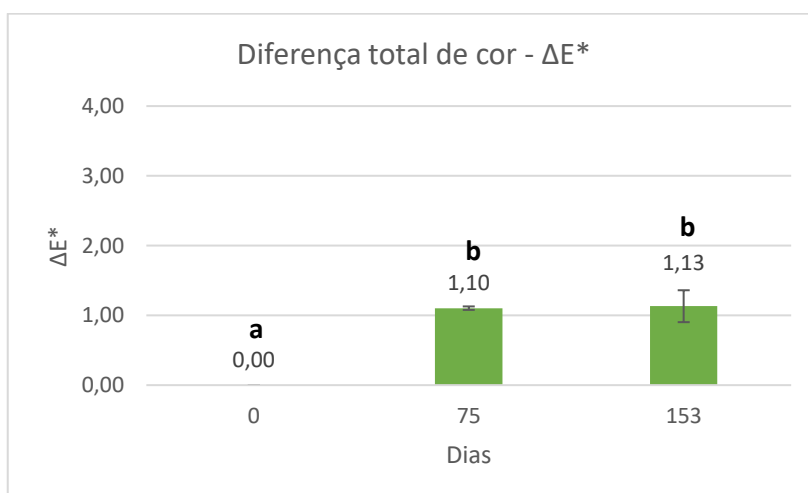


Figura 44 – Diferença total de cor, ao longo do tempo, do produto metabissulfito de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

3.2.7. Piripiri

O piripiri, *Capsicum annum Linnaeus*, foi analisado em termos de atividade de água, pH, microbiologia, colorimetria e organolepticamente.

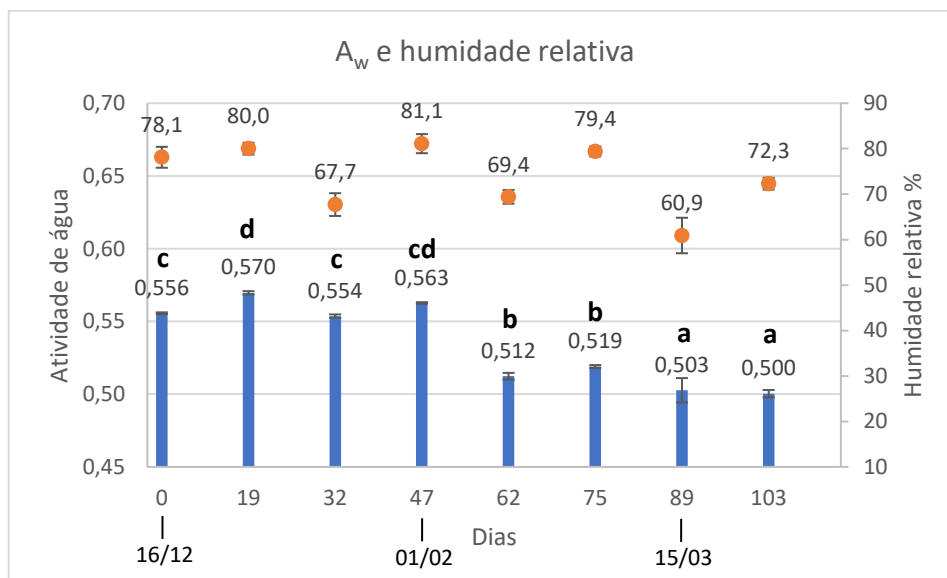


Figura 45 – Atividade de água do produto piripiri ao longo do tempo, com a correspondente média de humidade das 12h anteriores à recolha. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

Na Figura 45 observam-se os resultados relativos à variação da atividade de água, referente ao piripiri, ao longo do tempo. Verifica-se que este produto tem uma atividade de água entre 0,512 e 0,570 com diferenças estatisticamente significativas. É de notar que até aos 47 dias os valores de atividade de água foram mais elevados, tendo descido aos 62 dias e mantendo-se assim até aos 103 dias. Também neste produto é possível verificar uma certa relação entre a atividade de água e a humidade relativa do ar ($R^2 = 0,36$).

Relativamente ao pH, analisando a Figura 47, observa-se que não existiram diferenças estatisticamente significativas tendo este parâmetro oscilado entre 4,76 e 4,94.



Figura 46 – Piripiri

Considerando os valores de a_w observados, sugere-se que haja baixo crescimento microbiano, mas um aumento da oxidação lípica e acastanhamento não enzimático (Belitz, Schieberle e Grosch, 2009). No entanto, alguns estudos sugerem que esta especiaria é das mais contaminadas microbiologicamente (Farkas e Farkas-Mohácsi, 2014).

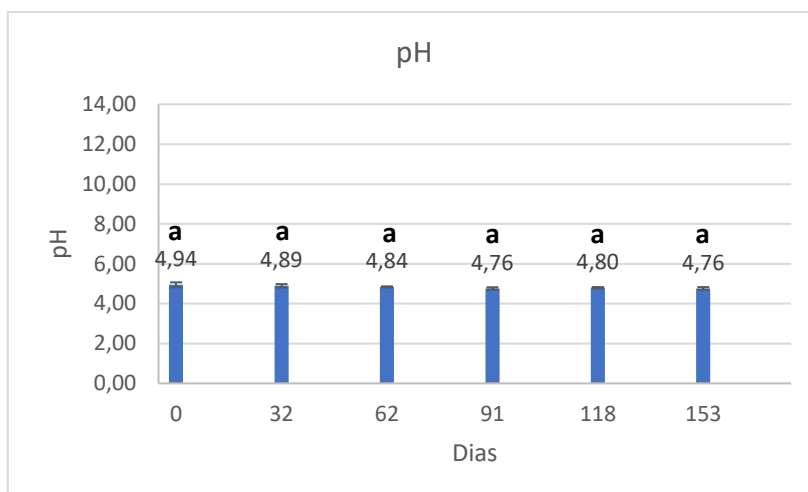


Figura 47 – Valores de pH, ao longo do tempo, do produto piripiri. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

Considerando os dados microbiológicos, analisando a Figura 48 e Figura 49 verifica-se que este produto apresentou sempre contagens inferiores a $1,00 \log_{10} \text{ufc/g}$ para bolores e leveduras, enterobactérias e para os patogênicos analisados, com a ausência de *Salmonella*. Corroborando a suposição anteriormente feita e refutando os estudos anteriormente referidos. No que se refere a microrganismos a 30°C verificou-se que as contagens oscilaram entre $<1,00 \log_{10} \text{ufc/g}$ e $3,11 \log_{10} \text{ufc/g}$, com este pico a ocorrer aos 68 dias. Concluindo, o produto apresenta conformidade microbiológica tendo em conta a bibliografia considerada e a recomendação da união europeia (Comissão Europeia, 2004; Food Administration, 1995; Food Standards Australia New Zealand, 2016).

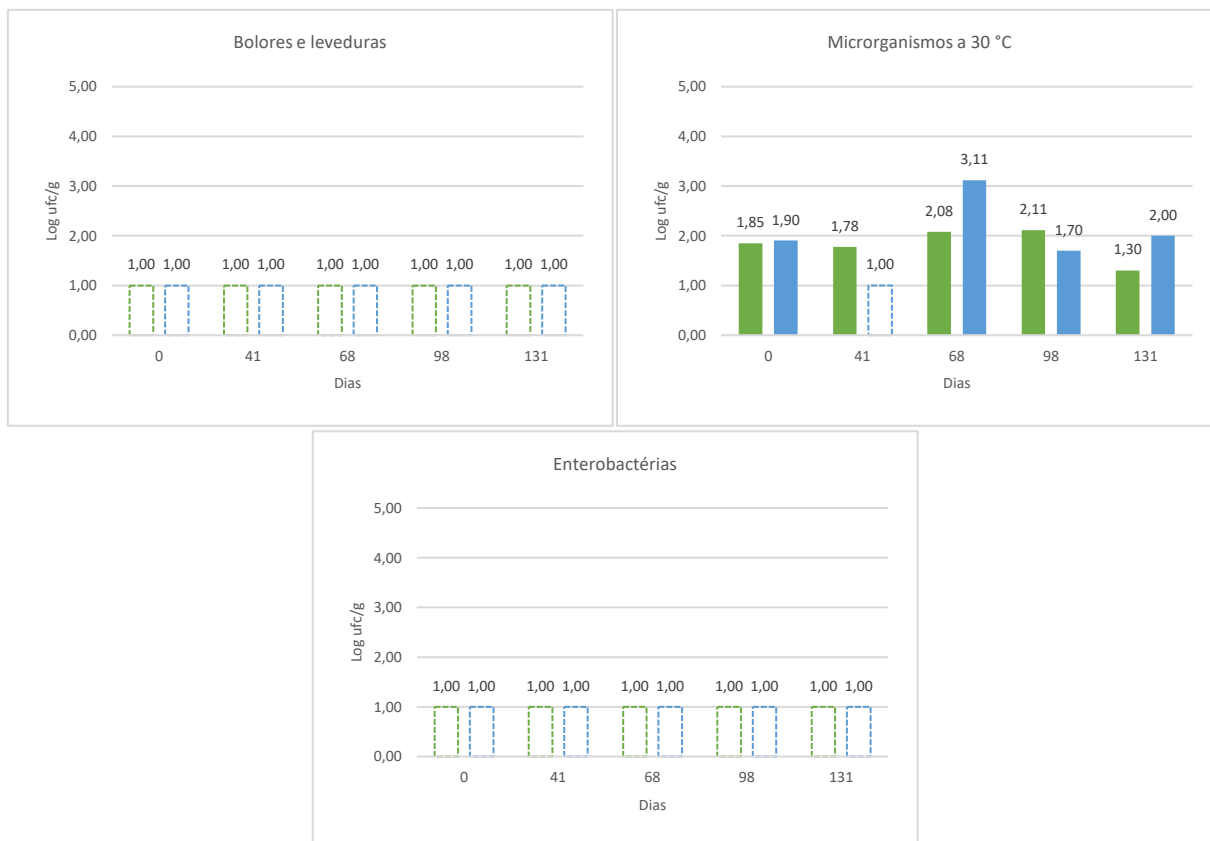


Figura 48 – Resultados microbiológicos, ao longo do tempo, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2) para o produto piripiri relativamente a bolores e leveduras, microrganismos a 30°C e enterobactérias. Resultados de 1,00 log₁₀ ufc/g deverão ser considerados <1,00 log₁₀ ufc/g.

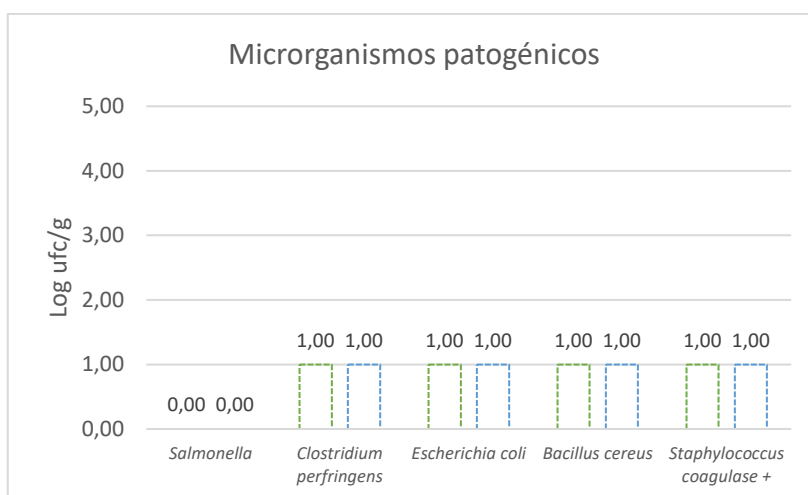


Figura 49 – Resultados microbiológicos, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2), do produto piripiri relativos a microrganismos patogénicos. Resultados de 1,00 log₁₀ ufc/g deverão ser considerados <1,00 log₁₀ ufc/g.

No que diz respeito ao estudo de colorimetria, observando a Figura 49 verifica-se uma ligeira diferença de cor aos 75 dias e 153 dias com significado estatístico relativamente ao controlo, tendo havido um aumento significativo da luminosidade (L*) –ANEXO IV

Figura 95 à Figura 97. No entanto entre os 75 e os 153 dias, embora haja uma ligeira diminuição da diferença total de cor esta não tem expressão estatística. No que se refere ao índice de acastanhamento, não houve alterações significativas neste parâmetro (ANEXO IV - Figura 94).

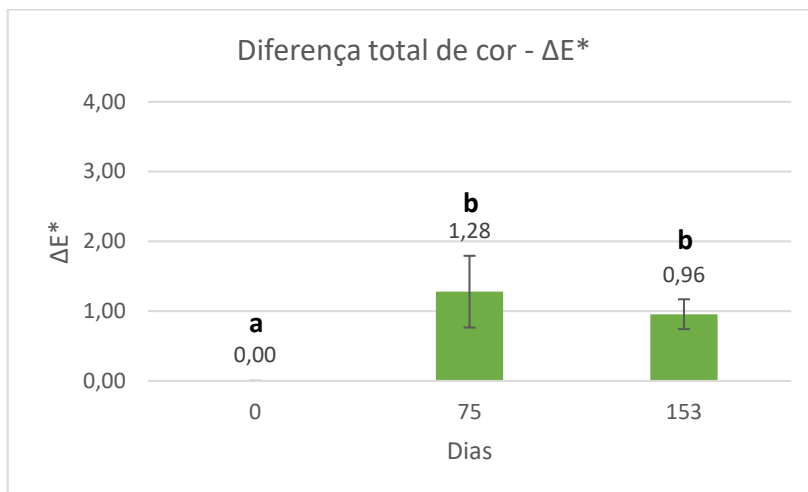


Figura 50 – Diferença total de cor, ao longo do tempo, do produto piripiri. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

Relativamente à análise sensorial (Figura 51) verifica-se que de um modo geral houveram mais pessoas capazes de distinguir se as amostras eram iguais ou não. De notar que quando as amostras eram diferentes quase a totalidade das pessoas conseguiu distinguir que estas eram de facto distintas. No entanto, quando as amostras eram iguais mais de metade das pessoas consideraram que as amostras eram diferentes.

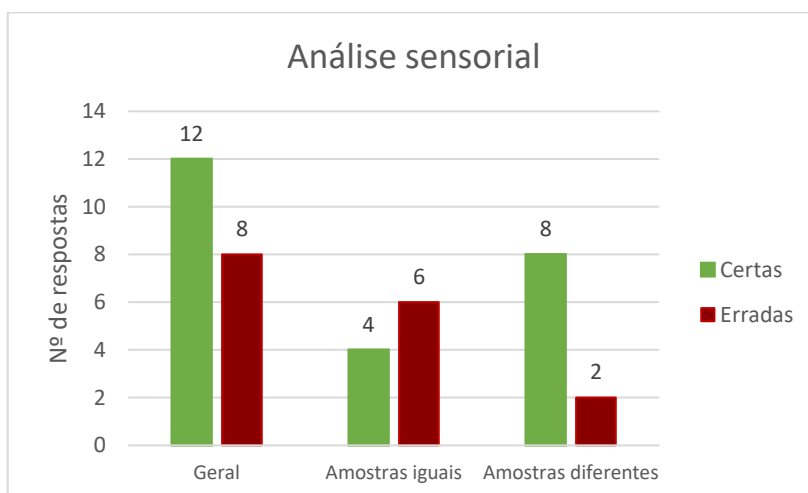


Figura 51 – Número de respostas certas e erradas no geral e para amostras que eram iguais ou diferentes relativas ao produto piripiri.

3.2.8. Pimenta preta

A pimenta preta, *Piper nigrum*, foi estudada durante a sua conservação ao nível de atividade de água, pH, microbiologia, colorimetria e análise sensorial.

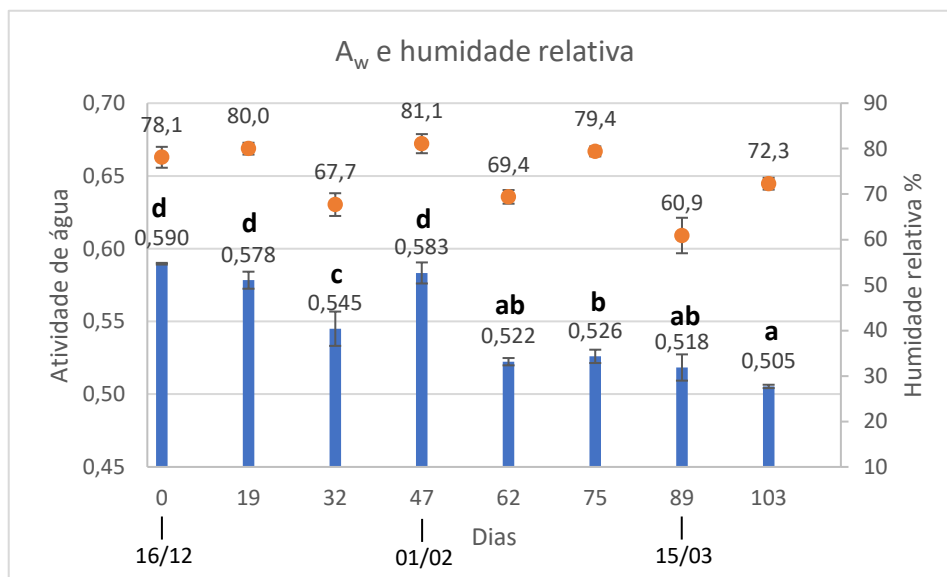


Figura 52 – Atividade de água do produto pimenta preta ao longo do tempo, com a corresponde média de humidade das 12h anteriores à recolha. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

No estudo de atividade de água, à semelhança do piripiri, também se consegue verificar que nos primeiros 47 dias a atividade de água é superior à que nos restantes dias. Ao longo do estudo este parâmetro variou entre 0,505 e 0,590, havendo assim algumas diferenças estatisticamente significantes. Além de que também se observa que a atividade da água tem uma certa correlação com a humidade relativa do ar (Figura 52) ($R^2 = 0,41$).

No estudo de pH, analisando a Figura 54, constata-se que apesar de haver uma variação entre 5,70 e 5,89, não existem diferenças significativas comparativamente ao controlo.



Figura 53 – Pimenta preta

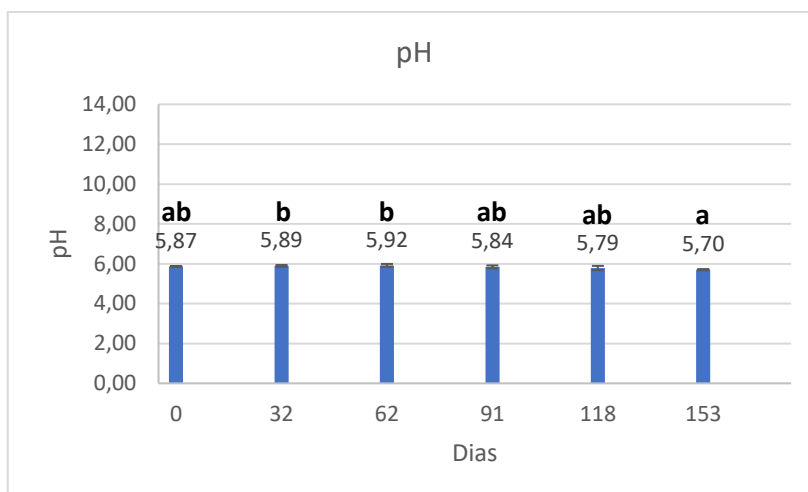


Figura 54 – Valores de pH, ao longo do tempo, do produto pimenta preta. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

No estudo microbiológico desta especiaria, verificou-se em termos de bolores e leveduras contagens entre 2,30 e 2,98 \log_{10} ufc/g, com uma ligeira descida na última análise para 1,00-1,30 \log_{10} ufc/g. No que diz respeito aos microrganismos a 30 °C, existiu uma variação entre 2,91 e 5,52 \log_{10} ufc/g, sendo evidente um ligeiro aumento gradual da carga microbiana ao longo do tempo de estudo. Relativamente às enterobactérias e aos microrganismos patogénicos verificaram-se sempre contagens inferiores a 1,00 \log_{10} ufc/g com a ausência de *Salmonella* (Figura 55 e Figura 56). Tendo isto em conta, verifica-se que apesar desta especiaria ser considerada uma das mais contaminadas microbiologicamente, apresenta conformidade microbiológica, tendo em conta a recomendação 2004/24/CE e a bibliografia considerada (Comissão Europeia, 2004; Farkas e Farkas-Mohácsi, 2014; Food Administration, 1995; Food Standards Australia New Zealand, 2016).

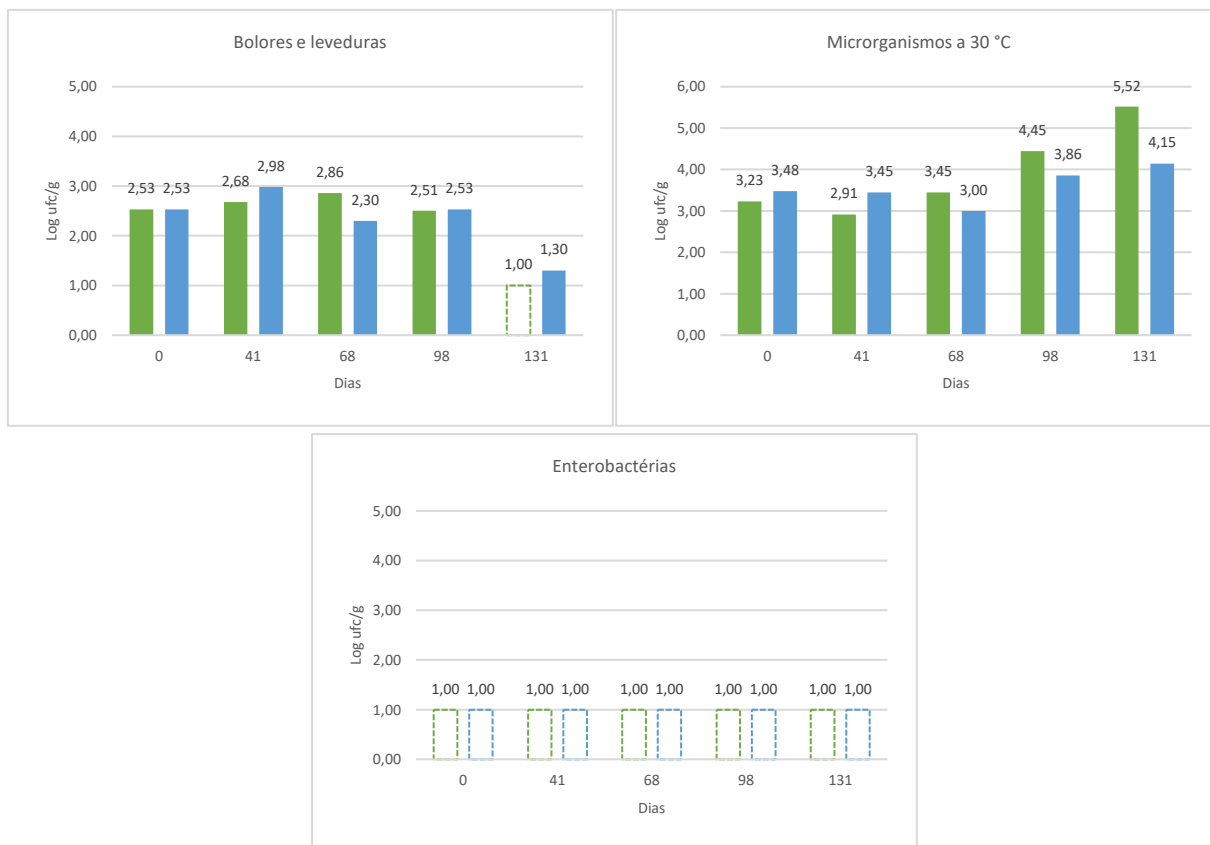


Figura 55 – Resultados microbiológicos, ao longo do tempo, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2) para o produto pimenta preta relativamente a bolores e leveduras, microorganismos a 30°C e enterobactérias. Resultados de 1,00 log₁₀ ufc/g deverão ser considerados <1,00 log₁₀ ufc/g.

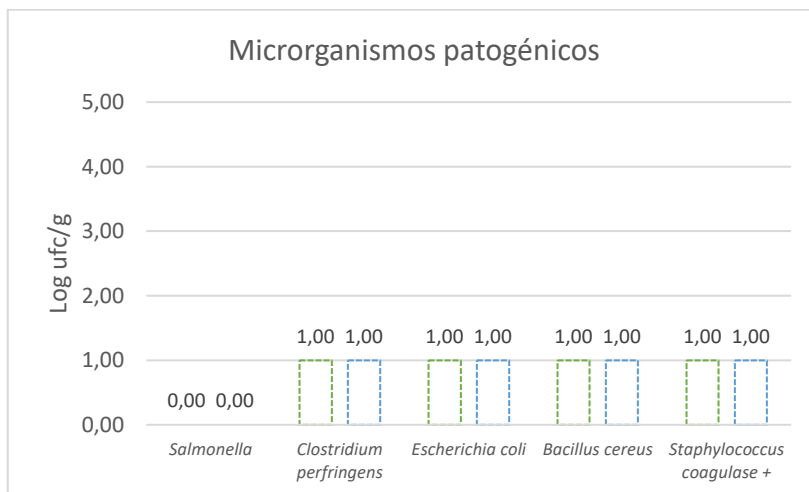


Figura 56 – Resultados microbiológicos, de duas réplicas (■ Réplica 1 e ■ Réplica 2), do produto pimenta preta relativos a microorganismos patogénicos. Resultados de 1,00 log₁₀ ufc/g deverão ser considerados <1,00 log₁₀ ufc/g.

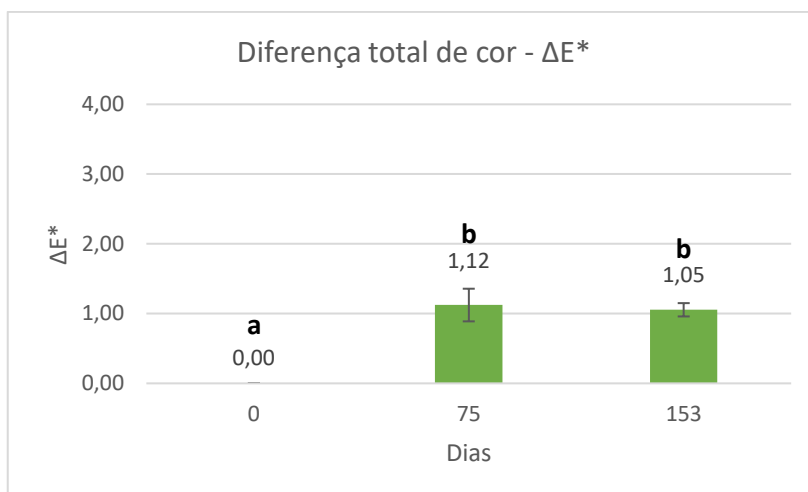


Figura 57 – Diferença total de cor, ao longo do tempo, do produto pimenta preta. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

Observando a Figura 57 constata-se uma ligeira diferença de cor aos 75 dias e 153 dias com significado estatístico relativamente ao controlo. No entanto entre os 75 e os 153 dias, embora haja uma ligeira diminuição da diferença total de cor esta não tem expressão estatística. De salientar que houve uma diminuição significativa do parâmetro b^* que quantifica a variação entre amarelo e azul (ANEXO IV - Figura 99 à Figura 102).

Relativamente à análise sensorial, cujos resultados estão expressos na Figura 58, o número de pessoas que conseguiu identificar as amostras foi superior às que não foram capazes. De notar que houve mais pessoas capazes de distinguir amostras diferentes do que amostras semelhantes.

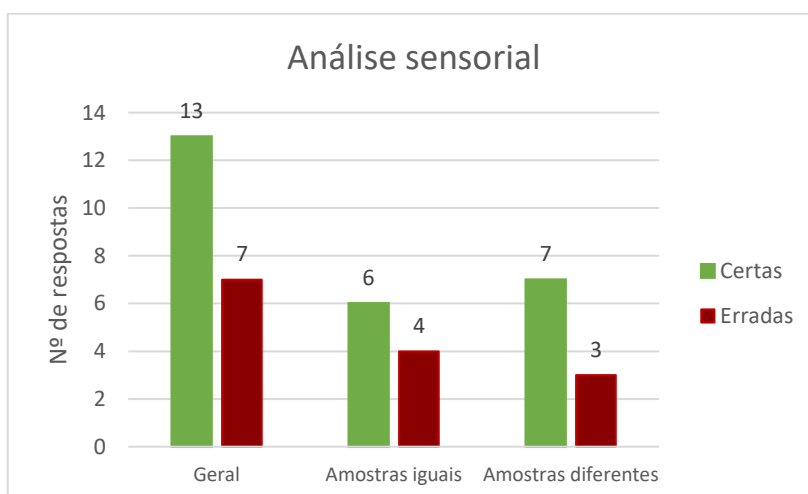


Figura 58 – Número de respostas certas e erradas no geral e para amostras que eram iguais ou diferentes relativas ao produto pimenta preta.

4. Conclusão

Ao fim de aproximadamente 150 dias de estudo de conservação, no que diz respeito ao armazenamento dos produtos estudados conclui-se que a humidade e a temperatura desta são modeladas pelas condições atmosféricas exteriores, indicando que sala de armazenamento não possui um controlo da humidade e temperatura. Além disso as condições não são as ideais, tendo em conta uma referência de humidade relativa inferior a 60% com temperatura inferior a 20 ° C, podendo haver risco de contaminação por fungos e bactérias, além de favorecer a ocorrência de reações deteriorantes (Belitz, Schieberle e Grosch, 2009).

Relativamente aos produtos estudados, o *Mix para afiambrados* apresentou alguma higroscopicidade, no entanto com resultados microbiológicos conformes. Apresentou um decréscimo no conteúdo de ácido ascórbico, podendo por em causa a sua função tecnológica, pelo que seria interessante efetuar mais estudos, nomeadamente a medição da sua capacidade antioxidante. Embora tenha sofrido mudança de cor, esta não tem relevância.

No que diz respeito ao *Mix de mortadela*, verificou-se que este tinha uma carga microbiana inicial elevada que foi sendo agravada ao longo do estudo de conservação, apresentando não conformidade no final do estudo a nível de microrganismos a 30 °C. Embora, este produto seja conforme a nível de microrganismos patogénicos conclui-se que não cumpre os requisitos microbiológicos, em termos de enterobactérias, desde o início do estudo se tivermos em conta a recomendação 2004/24/CE (Comissão Europeia, 2004). Tendo em conta que este produto é utilizado em produtos que não sofrem processamento térmico seria pertinente analisar a carga microbiana do produto final. Não apresentou diferenças de cor relevantes.

No que se refere à *Mistura de ervas* conclui-se que embora haja uma carga microbiana elevada, o produto apresenta conformidade microbiológica. Além disso, apresentou uma grande diferença significativa de cor, embora os resultados apresentem grande desvio padrão. Por forma a perceber se esta diferença de cor teria impacto no produto final, para o consumidor, seria pertinente fazer análise sensorial ao mesmo. Na análise sensorial efetuada a este produto no que diz respeito à diferença de aroma denota-se uma predisposição das pessoas a assumirem que a amostra é sempre diferente.

Relativamente ao *Mix extensor*, conclui-se que este produto apresentou conformidade microbiológica durante todo o estudo. Embora tenha apresentado diferenças

de cor, estas não são significativas derivados aos elevados desvios-padrão (devido à variabilidade da amostra).

No que diz respeito ao metabissulfito de sódio (E223) conclui-se que mantém a sua atividade antimicrobiana e apesar de ter apresentado uma ligeira alteração de cor, esta é desprezável tendo em conta que este não é utilizado com função de corante.

Relativamente ao ascorbato de sódio, verificou-se que este produto é bastante higroscópico e que sofreu uma diminuição significativa de conteúdo de ácido ascórbico ao 4º mês de estudo. Além disso, parece haver um decréscimo da atividade antioxidante no mesmo mês, no entanto este estudo foi pouco conclusivo. Estes resultados poderão ser devidos ao acastanhamento deste composto, tendo sido observado um aumento do índice de acastanhamento no estudo de colorimetria.

No que diz respeito ao piriri concluiu-se que esta especiaria apresentou conformidade microbiológica ao longo de todo o estudo, apresentou uma ligeira diferença de cor e no estudo de análise sensorial denotou-se uma certa dificuldade em distinguir amostras iguais.

Por último, a pimenta preta apresentou uma evolução da carga microbiana ao longo do estudo, no entanto sem afetar a conformidade microbiológica. Além disso, também revelou uma ligeira diferença de cor e o estudo de análise sensorial demonstrou alguma dificuldade dos provadores em distinguir as amostras.

Em suma, conclui-se que apesar das condições não ideais em que os produtos são armazenados, verifica-se que a maioria é pouco afetada ao longo dos 150 dias de estudo. No entanto, este estudo foi efetuado de novembro a maio, com temperaturas relativamente baixas, durante a maior parte do estudo, e dias em que a humidade relativa não se apresentou muito elevada. Por este motivo, não será possível realizar extrapolações dos resultados para condições em que humidade relativa e temperatura sejam mais drásticas, porque estas poderão afetar grandemente a conservação dos produtos. É de salientar que os produtos mais suscetíveis foram o ascorbato de sódio e o *Mix de mortadela*, tendo de se prestar especial atenção ao último visto apresentar não conformidade microbiológica.

Desenvolvimento de novos produtos curados²

Como anteriormente referido, surgiu a oportunidade de participar no desenvolvimento de dois produtos, salame e *chorizo* picante. Durante este capítulo será abordado como foi realizado o desenvolvimento destes dois produtos, pela ordem real de acontecimentos, sendo que serão discutidos simultaneamente visto que foram, a determinada altura, desenvolvidos em paralelo.

O início do processo de desenvolvimento de novos produtos começou pela a existência de um problema numa matéria prima que integrava na formulação do salame. Essa matéria-prima era uma mistura “X” que na sua composição, além de especiarias, aromas, dextrose, antioxidantes e monoglutamato de sódio, continha o GDL (glucono-delta-lactona). Como anteriormente referido, este acidulante é utilizado como alternativa à acidificação por via fermentativa. Tendo isto em conta e sabendo que a compra de GDL puro seria bastante caro e além disso ficaria muito tempo em stock, optou-se por fazer o produto com acidificação por via fermentativa. Além disso, como a mistura “X” além de promover acidificação química, também tinha uma grande relevância no sabor, foi necessário fazer um ajuste de condimentos.

Posto isto, o primeiro passo foi fazer uma formulação com produtos já existentes na empresa sem ser necessário a compra de mais nenhum condimento ou aditivo. Assim a primeira formulação incorporou: carne de suíno, bovino e gordura de suíno, sal, nitrito de sódio, dextrose, pimenta preta moída, leite em pó, citrato de sódio, mistura “Y” (acetato de sódio, dextrose, cultivos acido-láticos, sal e extratos de especiarias) e mistura “Z” (especiarias, dextrose e monoglutamato de sódio). Como era necessário desenvolver uma fermentação foi adicionado o leite em pó, que além de dar sabor, poderia potenciar o crescimento de culturas acido-láticas, a dextrose em grandes quantidades para servir de “alimento” aos microrganismos e potenciar o seu desenvolvimento e foi utilizado uma mistura Y que continha cultivos acido-láticos que poderiam levar à fermentação no salame. Além disso, foi utilizada a mistura “Z” para colmatar a parte do sabor dada pela mistura “X”.

Feita a formulação, o próximo passo foi definir quais as condições do processo de fabrico. Como a antiga formulação do salame não assentava numa fermentação microbiana

² Trabalho desenvolvido em coautoria com a Mestre Diana Castro

a empresa não tinha condições físicas ótimas para se promover este processo. Deste modo, para colmatar este problema optou-se por colocar o produto na estufa para simular uma sala de fermentação. Na Tabela 16 é possível observar o processo de produção e as respectivas condições.

Tabela 16 – Processo de fabrico e condições de fabrico do primeiro salame.

Etapa	Processo	Condições
1	Preparação da pasta (<i>cutter</i>)	Até aos 10 °C
2	Maturação	4 a 7 °C – 1 dia
3	Enchimento	
4	Arranque de fermentação	Estufa: 8h; 35 °C; Hr a 90%
5	Fermentação	Sala de enchimento: 2 a 3 dias; ≈ 12 °C; Hr $\geq 90\%$
6	Fumeiro	1 a 2h
7	Maturação/Secagem	Clima: 3 a 4 semanas; $\approx 12-14$ °C; Hr $\approx 75\%$

De maneira a controlar se o produto estava a sofrer fermentação foi-se controlando o pH. Os valores obtidos estão representados na Tabela 17.

Tabela 17 – Valores de pH e temperatura do salame nas diferentes fases de fabrico do primeiro salame

Etapa	pH	T °C
Após fazer a pasta	5,70	10,0
Após enchimento	5,70	5,60
Após a estufa	5,64	-
Durante a fermentação	5,69	12,0
Após fumeiro	5,71	17,0
Uma semana de maturação	5,45	10,9
Duas semanas de maturação	5,35	11,90
Três semanas de maturação	5,13	12,3
Quatro semanas de maturação	5,11	11,4

Tendo em conta estes resultados, verificou-se que a fermentação não terá ocorrido como pretendido. Isto porque tendo em conta a bibliografia existente, seria de esperar o decréscimo do pH para 5,2 ou menos, em 24 a 48h de fermentação (Feiner, 2016). No entanto, só se verifica este decréscimo entre as duas e três semanas de maturação.

Além disso verificou-se que o produto apresentou uma cor castanha invés da cor avermelhada característica de produtos curados (Figura 59 – C).



Figura 59 – Primeiro salame nas diferentes fases de produção. A – após enchimento; B – após fase de fermentação; C – produto final.

Isto poderá ser explicado pela ausência da descida de pH. No processo de formação da cor curada o nitrato é reduzido a nitrito pela nitrato redutase a um pH superior a 5,5 e a temperatura superior a 8 °C. A esta altura o nitrito oxida a mioglobina rapidamente a metamioglobina que é acastanhada. Ao mesmo tempo o oxido nítrico é obtido através do nitrito via ácido nitroso (a pH ótimo de 5,2) e liga-se a metamioglobina formando a nitroso-metamioglobina. A nitroso-metamioglobina é reduzida a nitrosomioglobina apresentando cor vermelha, e é consequentemente desnaturada apresentando finalmente a cor curada estável. Esta desnaturação só é possível a pH inferior a 5,2. Tendo isto em conta, verifica-se que a diminuição do pH é um fator importante no desenvolvimento da cor curada deste tipo de produtos, e poderá ser este o motivo pelo qual o salame ficou com tom acastanhado (Feiner, 2016).

Na altura que se estava a terminar o fabrico do salame, foi-nos proposto desenvolver o *chorizo* picante, um produto novo para a empresa. Como este tipo de produto também é um fermentado curado o seu processo de fabrico é semelhante ao do salame. Tendo em conta a experiência com o salame foi necessário mudar a estratégia e por isso contactou-se um fornecedor para se adquirir culturas ácido-láticas de modo a se conseguir potenciar a

fermentação. A cultura *starter* foi adquirida liofilizada e tem na sua constituição *Lactobacillus* e *Staphylococcus*.

Deste modo, a formulação do *chorizo* picante foi a seguinte: carne de suíno magra, sal, nitrito de sódio, dextrose, pimenta preta moída, leite em pó, mistura “Z” (especiarias, dextrose e monoglutamato de sódio), massa de pimentão, piri-piri, pimentão doce, oleoresina de pimentão, funcho e a cultura *starter* dissolvida em água. O processo de fabrico foi mudado relativamente ao efetuado para o salame e foi efetuado de acordo com o descrito na Tabela 18.

Tabela 18 – Processo de fabrico e condições de fabrico do *chorizo* picante.

Etapa	Processo	Condições
1	Corte da carne e mistura dos ingredientes	0 °C a 5 °C
2	Enchimento	0 °C a 5 °C
3	Fermentação	Sala de enchimento: 3 a 4 dias; T ≈ 12 °C; Hr ≥ 90%
4	Fumeiro	1 a 2h
5	Maturação/Secagem	Clima: 3 a 4 semanas; T ≈ 12-14 °C; Hr ≈ 75%

Como é possível observar, foi eliminada a etapa de maturação e de arranque de fermentação na estufa. Tal foi feito porque o fornecedor das culturas indicou que estas eram bastante resistentes e que não precisariam de condições ótimas de crescimento. À semelhança do efetuado para o salame, também para o *chorizo* picante foi monitorizado o pH, apresentado na Tabela 19.

Tabela 19 – Valores de pH e temperatura do *chorizo* picante nas diferentes fases de fabrico.

Etapa	pH	T °C
Após enchimento	5,70	4,50
Após a fermentação e fumeiro	5,25	10,5
Uma semana de maturação	4,93	11,8
Duas semanas de maturação	4,82	11,2

Tendo em conta os valores apresentados verifica-se que ocorreu fermentação desejada, tendo o pH descido a 5,25 nos primeiros dias e permanecido no final nos 4,82. No entanto, durante a produção do *chorizo* picante o produto ficou com bastantes bolores à

superfície (Figura 60 – B e C). Este facto poderá ter acontecido devido à condensação inicial que existe no produto no início da fermentação. A maneira de colmatar este problema foi lavar o produto e secá-lo um pouco no fumeiro. Posto isto, nunca mais ocorreram bolores à superfície do produto, tendo o resto do processo corrido normalmente.



Figura 60 – *Chorizo* picante durante as diferentes fases de fabrico. A – após o enchimento; B e C – quando desenvolveu bolores na superfície; D – no final do processo.

Como este processo funcionou, foi feito o mesmo processo para o salame. Desta maneira a formulação foi adaptada para conter a cultura starter e foi eliminado a mistura “Y”. A descrição do processo e os valores de pH nas diferentes fases de fabricos podem ser observados na Tabela 20 e Tabela 21 respetivamente.

Tabela 20 – Processo de fabrico e condições de fabrico do segundo salame

Etapa	Processo	Condições
1	Preparação da pasta (<i>cutter</i>)	Até aos 10 °C
2	Enchimento	
3	Fermentação	Sala de enchimento: 2 a 3 dias; T \approx 12 °C; Hr \geq 90%
4	Fumeiro	1 a 2h
5	Maduração/Secagem	Clima: 3 a 4 semanas; T \approx 12-14 °C; Hr \approx 75%

Tabela 21 – Valores de pH e temperatura do salame nas diferentes fases de fabrico do segundo salame

Etapa	pH	T °C
Após fazer a pasta	5,95	10,0
Após fumeiro e fermentação	5,15	13,2
Uma semana de maturação	4,97	12,6
Duas semanas de maturação	4,80	11,3
Três semanas de maturação	4,86	12,0
Quatro semanas de maturação	4,82	11,3

Tendo em conta os valores de pH verifica-se que o processo foi bem-sucedido e ocorreu a fermentação. No entanto, também neste produto ocorreram bolores à superfície e o produto foi novamente ao fumeiro, tendo posteriormente o processo ocorrido normalmente sem mais ocorrências de bolores (Figura 61– B). Tendo esta situação em conta, foi decidido que a etapa do fumeiro será antecipada e irá ser efetuada logo a seguir ao enchimento de maneira a prevenir o aparecimento dos bolores.



Figura 61 – Salame 2 nas diferentes fases de fabrico. A – após enchimento; B – durante a maturação; C- produto final.

Depois de encontrar as formulações e o processo adequados, o próximo passo foi proceder à análise sensorial. Foi feita análise sensorial ao consumidor com teste afetivo e análise sensorial descritiva feita a colaboradores da empresa, nomeadamente aos responsáveis da secção da salsicharia, à responsável da qualidade e à administração. A

análise sensorial afetiva é baseada em medidas de preferência e pode ser hedónica – fornecendo uma medida de preferência – ou pode ser de preferência – em que é escolhido o produto favorito (Stone, 2015). A análise efetuada foi feita numa escala de 1 a 5, ou seja, do detesto ao gosto muito para os seguintes atributos: cor, odor, sabor, textura e apreciação global (ficha de prova no ANEXO V). A análise sensorial descritiva é um método que fornece descrições quantitativas do produto por parte de pessoas qualificadas, sendo um teste muito completo que tem em contas todas as sensações sentidas sendo a avaliação definida pelas características do produto (Stone, 2015). Nesta análise foi considerado a cor, a consistência aparente e na boca (húmido vs. seco e mole vs. duro), odor, sabor (acidez, sal, gordura, persistência) e aroma (Ficha de prova no ANEXO V).

Na Figura 62 observa-se a média dos resultados obtidos na análise sensorial afetiva, realizada a 43 pessoas com idades compreendidas entre 20 e 59 anos, para os diferentes atributos relativos ao *chorizo* picante. Verificou-se que a cor e o odor foram atributos que os consumidores gostaram mais, no entanto todos os atributos ficaram classificados a cima do 4 (gosto). Nos comentários dos inquiridos, no geral afirmaram que o produto era bom, sendo que alguns gostariam que fosse mais rijo, mais picante ou menos gorduroso.



Figura 62 – Média dos resultados da análise sensorial afetiva numa escala de 1 a 5, sendo 1-detesto e 5-gosto muito, para o produto *chorizo* picante.

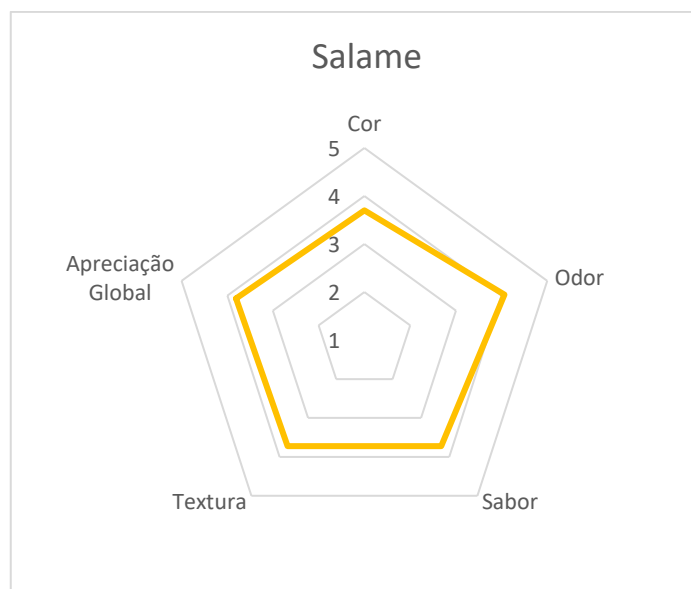


Figura 63 – Média dos resultados da análise sensorial afetiva numa escala de 1 a 5, sendo 1-detesto e 5-gosto muito, para o produto salame.

Na Figura 63 estão representados os resultados da análise sensorial afetiva do salame realizada a 47 pessoas, com idades compreendidas entre os 20 e 65 anos. Verificou-se que para todos os atributos a média da classificação ficou ligeiramente abaixo dos 4 (gosto), sendo o odor o atributo mais bem classificado. Relativamente aos comentários feitos, a maioria refere que preferiam o produto menos gorduroso e mais apetitoso. Alguns referem que o produto deveria ser mais avermelhado.

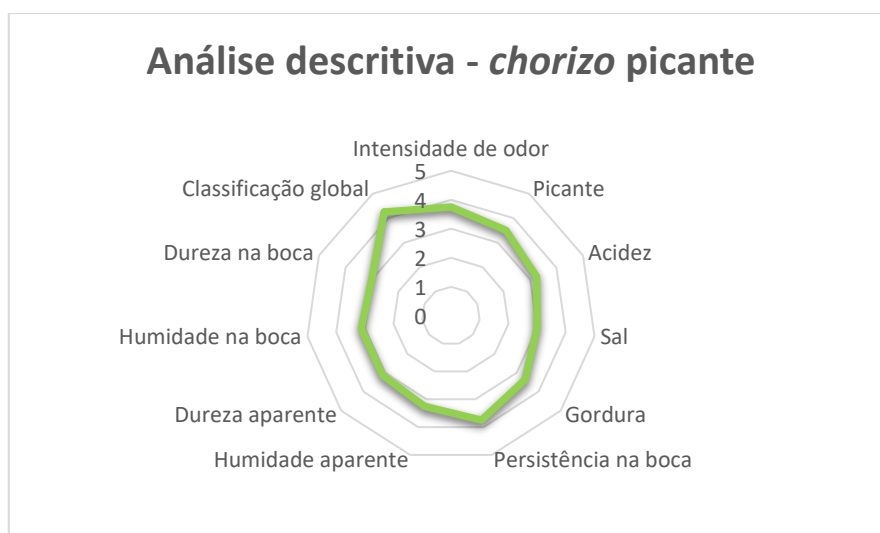


Figura 64 – Resultados relativos à análise descritiva efetuada para o *chorizo* picante expresso pela média dos valores obtidos.

Relativamente à análise descritiva, na Figura 64 e Figura 65 é possível observar os resultados obtidos para os dois produtos. Verificou-se que o *chorizo* picante é um produto com odor ligeiramente intenso, um pouco picante e gorduroso, com acidez e quantidade de sal balanceada e uma boa persistência de sabor na boca. Aparentemente é ligeiramente húmido, mas com aspeto intermédio de dureza, sendo de humidade e dureza intermédia na boca. Globalmente foi considerado um produto ligeiramente acima de bom.

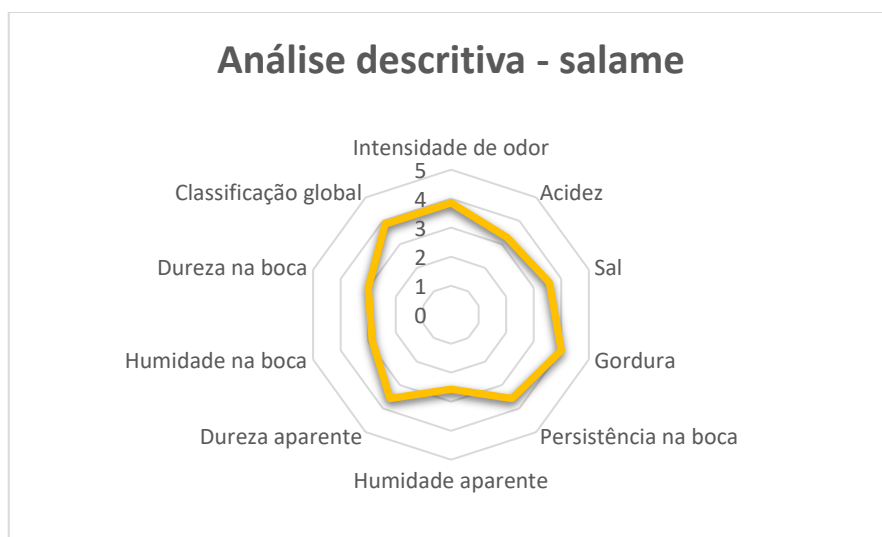


Figura 65 – Resultados relativos à análise descritiva efetuada para o salame expresso pela média dos valores obtidos.

No que diz respeito ao salame verifica-se um odor ligeiramente intenso, com sabor ácido mediano. É um pouco salgado e algo gorduroso com uma boa persistência de sabor na boca. É aparentemente pouco húmido e um pouco duro, mas quando na boca tem dureza e humidade medianas. Globalmente foi classificado como um produto bom.

International Featured Standards – IFS Food³

Durante o estágio na empresa Irmãos Monteiro, S.A. surgiu a oportunidade de colaborar na implementação da norma IFS. Esta norma, como anteriormente referido, é de qualidade e segurança alimentar e exige bastantes requisitos. De entre eles, colaborei na elaboração de uma base de dados de todas as fichas técnicas de fornecedores e no levantamento de perigos físicos.

Na elaboração da base de dados de fichas técnicas construiu-se uma folha de cálculo com os diversos artigos comprados aos fornecedores e foram recolhidas todas as informações importantes das suas fichas técnicas, tais como: lista de ingredientes, origem do produto, informação sobre OGM e irradiação, critérios microbiológicos, critérios químicos, critérios organoléticos, declaração nutricional, informação sobre os alergénios, informação sobre as condições de armazenamento e prazo de validade. Num total foram recolhidas informações de 206 fichas técnicas. É possível observar um exemplo na Figura 66.

³ Trabalho desenvolvido em coautoria com a Mestre Diana Castro

Codigo	Descrição	Estado	Nº Fornecedor	Nome Fornecedor	Ficha técnica	Data última atualização FT	Dias desde última atualização	Observações/ Ocorrências	Lista de Ingredientes	Data da última atualização:	Dias desde última atualização	Por:	OGM	Radiação	Origem																		
731500054	Piri-Piri	Ativo	576			27/04/2015	769		100% Capsicum annum Linnaeus	19/04/2017	46	RA	NÃO	NÃO	Índia																		
Critérios Microbiológicos																																	
Mesófilos aeróbios totais	Lactobacillus spp	Bactérias Lácticas	Bolores e leveduras	Bolores	Leveduras	Salmonella spp	Enterobacterias	Escherichia coli	Campylobacter	Coliformes termotolerantes	Coliformes totais	Vibrio spp	Vibrio parahaemolyticus	Vibrio vulnificus ou cholerae	Staphylococcus aureus	Bacillus cereus	Clostridium	Clostridium perfringens	Clostridium botulinum	bactérias sulfito-redutoras	Esporos Clostridium Sulfito-Redutores	Staphylococcus Coagulase Positiva	Lysteria monocytogenes	Pesquisa inibidores	Trichinella	Streptococcus fecais	Psicrófilos						
≤ 1x10 ⁶ ufc/g	x	x	2x10 ³ ufc	x	x	Negativo em 25 g	x	≤ 1x10	x	x	1x10 ²	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x						
Critérios Nutricionais																																	
Valor Energético (por 100g) kcal/kJ	Proteínas (por 100g)	Hidratos de Carbono (por 100g)	Dos quais açúcares (por 100g)	Sacarose (por 100g)	Glucose (por 100g)	Frutose (por 100g)	Amido (por 100g)	Lípidos (por 100g)	Dos quais saturados (por 100g)	Dos quais monoinsaturados (por 100g)	Dos quais polinsaturados (por 100g)	Trans (por 100g)	Glicogénio (por 100g)	Fibras (por 100g)	Sal (por 100g)	Sódio (por 100g)	Licopeno (por 100g)	Cálcio (Ca) (por 100g)	Fósforo (P) (por 100g)	Potássio (K) (por 100g)	Ferro (Fe) (por 100g)	Vitaminas e Minerais (por 100g)	Vitamina A (por 100g)	Vitamina E (por 100g)	Vitamina C (por 100g)	Água (por 100g)							
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x						
Critérios Químicos																																	
Ferrocianeto de sódio (E535)	Ferrocianeto de potássio (E536)	Metais Pesados	Selénio	Arsénio	Chumbo	Cádmio	Mercurio	Potássio	Magnésio	Cálcio	Sulfato	Ferro	Cobre	Benzopireno	Biotoxinas Marinhas	Dioxinas	Soma de dioxinas e PCB (total)	Soma de dioxinas e PCB sob a forma de dioxinas (PCB/F-TEQ-OMS)	PCB (28, 52, 101, 138, 153, 180)	Alicina	Histamina	pH	a _w	Teor de Água	Teor de humidade	Insolúveis em água	Acidez expressa H2SO4	Índice de Queda	Ocratoxina A	Desoxinivalenol	Zearalenona	SO ₂	
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	≤ 10%	x	x		≤ 20 ppb	x	x	x		
Critérios Químicos																																	
Tolueno Insolúvel	Acetona Insolúvel	Cinza	Cinza Insolúvel	Aflotoxinas B1	Aflotoxinas totais	Óleo Volátil	Lignina	Lactose	Hemicelulose	Celulose	Dextrose	Glucose	Dissacarídeos	Glúten Seco	Fosfatos	Nitratos	Nitritos	Fibra Insolúvel (por 100g)	Teor de Gordura (por 100g)	Colesterol	Índice de Peróxidos	Cloruros	Sulfuroso	Cloretos	Cloreto Sódio	Gradação Alcoólica (%)	Acidez (volátil/total) g/L	Antibióticos	Promotores de crescimento	Natamicina	Melamina	Taninos	Capsaicina
x	x	≤ 8 %	≤ 1%	≤ 5ppb	≤ 10 ppb	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	55000 - 65000 SHU	
Critérios organolépticos																																	
Cor em solução	Tipo de Cor	Intensidade da Cor	Homogeneidade	Cor	Odor/cheiro	Sabor	Aroma	Aspeto	Consistência	Textura	Densidade	Viscosidade	Solubilidade	Índice Refractómetro	Ponto de Ignição	Ponto de Fusão	Granulometria	Matéria Insolúvel	Dimensões	Características Reológicas - Parâmetro W'E-4J	Características Reológicas - Parâmetro P/L	Matérias Estranhas											
x	x	x	x	Pó vermelho acastanhado		Intensamente pungente, penetrante e prolongado	Quente, picante, agradável que se torna demasiado acre e irritante se inalado por demasiado tempo;	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	Isento											
Alergénios												Vestígios de Alergénios																					
GLÚTEN	CRUSTÁCEOS	OVOS	PEIXE	SOJA	LEITE	AVOADO	MOSTARDA	SULFITOS	MOLUSCOS	AMENDOIM	FRUTOS DE CASCA RUA	SÉSAMO	GLÚTEN	CRUSTÁCEOS	OVOS	PEIXE	SOJA	LEITE	AVOADO	MOSTARDA	SULFITOS	MOLUSCOS	AMENDOIM	FRUTOS DE CASCA RUA	SÉSAMO	Prazo de validade	Condições de armazenamento						
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	S	S	N	S	S	S	S	S	N	N	N	N	N	12 meses	Em local seco e fresco, ao abrigo da luz solar em sacos						

Figura 66 – Excerto da base de dados relativo ao produto piri-iri.

Relativamente aos perigos físicos, a norma IFS exige um registo de todos os objetos fixos feitos de/ou incorporando vidro ou materiais quebradiços presentes em áreas de manipulação de matérias-primas, processamento, embalagem e armazenamento. Nesse registo é necessária toda a informação sobre a localização e a condição do objeto, sendo necessárias avaliações periódicas (com frequência justificada) a esses materiais. Deste modo, foi efetuado um levantamento de todo o material quebradiço nas zonas relevantes da empresa Irmãos Monteiro, S.A. O registo foi feito em folha de cálculo Microsoft Office® Excel® e foram tiradas fotografias para melhor identificar os perigos físicos. Foram considerados como materiais quebradiços borrachas e acrílicos de portas, acrílicos, tapetes e botões de máquina, calhas de fio elétrico, interruptores e tomadas, caixilhos e lâmpadas, entre outros. Na Figura 67 é possível observar um exemplo.

Local:	Produção de banha (BL)						
Data:	Designação:			Nº	Estado		
21/04/2017	Conjunto de portas:						
21/04/2017	*borracha			2	normal		
21/04/2017	*janelas			2	normal		
21/04/2017	paletes de plástico						
21/04/2017	baldes						
21/04/2017	doseador de papel			1	normal		
21/04/2017	doseador de sabonete			1	normal		
21/04/2017	bidão						
21/04/2017	rodos						
21/04/2017	luminárias			2	normal		
21/04/2017	relógio de parede			1	normal		
21/04/2017	placa de aviso			1	normal		
21/04/2017	estante (nº de prateleiras)			8	normal		
21/04/2017	armário para material de limpeza			1	normal		
21/04/2017	pá			1	normal		
21/04/2017	tubos de plástico			1			
21/04/2017	Prensa (ao lado do armário):						
21/04/2017	*plásticos (manípulos)			3	normal		
21/04/2017	Panela 1:						
21/04/2017	*tubo de plástico			1	degradado		
21/04/2017	*mostrador de pressão			1	normal		
21/04/2017	Panela 2:						
21/04/2017	*mostrador de pressão			1	normal		
21/04/2017	*tubo de plástico			2	normal		
21/04/2017	*abraçadeiras				normal		
21/04/2017	*controlador com 2 botões			1	normal		
21/04/2017	Prensa grande:						
21/04/2017	*controlador com 2 botões			1	normal		
21/04/2017	*tubo de plástico			1	normal		
21/04/2017	Mini-pá			1	normal		
21/04/2017	balde do lixo sem tampa			1	normal		
21/04/2017	óculos de proteção			1	normal		

Figura 67 – Registo de materiais quebradiços na sala de produção de banha.

III – Referências

APCER - **IFS standards** [Em linha]. Porto: APCER. [Consult. 6 mai. 2017]. Disponível em WWW:<URL: <https://www.apcergroup.com/portugal/index.php/pt/certificacao/52/ifs-standards>>.

ASTIASARÁN, I.; ANSORENA, D. - Sausages and comminuted products: Dry fermented products. In **Encyclopedia of Food and Health**. 1st. ed. Oxford: Academic Press, 2016. ISBN 9780123849472. p. 728–733.

AZEEZ, S.; PARTHSARATHY, V. A. - Parsley. In **Chemistry of Spices**. 1st. ed. UK: CAB International, 2008. ISBN 9781845934200. p. 376–395.

BANACH, J. L.; STRATAKOU, I.; VAN DER FELS-KLERX, H. J.; BESTEN, H. M. W. DEN; ZWIETERING, M. H - European alerting and monitoring data as inputs for the risk assessment of microbiological and chemical hazards in spices and herbs. **Food Control**. Vol. 69 (2016) p. 237–249.

BELITZ, H. D.; SCHIEBERLE, W.; GROSCH, P. - Water. In **Food Chemistry**. 4th. ed. Leipzig: Springer, 2009. ISBN 9783540699330. pp. 1–7.

BELITZ, H. D.; SCHIEBERLE, W.; GROSCH, P. - Spices, Salt and Vinegar. In **Food Chemistry**. 4th. ed. Leipzig: Springer, 2009. ISBN 978354069933. p. 981.

BELITZ, H. D.; SCHIEBERLE, W.; GROSCH, P. - Food Additives. In **Food Chemistry**. 4th. ed. Leipzig: Springer, 2009. ISBN 9783540699330. p. 452.

BERKE, T. G.; SHIEH, S. C. - *Capsicum* cultivars. In **Handbook of herbs and spices**. 2nd. ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2012. ISBN 9780857090393. p. 116–130.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. - Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**. Vol. 28 (1995) p. 25–30.

CHARLES, D. J. - Parsley. In **Handbook of herbs and spices**. 2nd. ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2012. ISBN 978085709039-. p. 430–447.

CHOE, E.; MIN, D. B. - Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of Foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. Vol. 8, nº4 (2009) p. 345–358.

COMISSÃO EUROPEIA - **RECOMENDAÇÃO DA COMISSÃO de 19 de Dezembro de 2003 relativa a um programa coordenado de controlo oficial dos géneros alimentícios para 2004** [Em linha]. Europa. [Consult. 16 out. 2016]. Disponível em WWW:URL:<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX%3A32004H0024>.

COMISSÃO EUROPEIA - **REGULAMENTO (CE) N.º 1881/2006 DA COMISSÃO de 19 de Dezembro de 2006** [Em linha]. Europa. [Consult. 16 out. 2016]. Disponível em WWW:URL: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=celex%3A32006R1881>.

COMISSÃO EUROPEIA - **REGULAMENTO (UE) 2015/1137 DA COMISSÃO de 13 de julho de 2015** [Em linha]. Europa. [Consult. 16 out. 2016]. Disponível em WWW:URL: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX%3A32015R1137>.

CORZO-MARTÍNEZ, M.; CORZO, N.; VILLAMIEL, M.; CASTILLO, M. D. - Browning Reactions. In **Food Biochemistry and Food Processing**. 2nd. ed. Oxford: John Wiley & Sons, Inc., 2012. ISBN 9780813808741 p. 69–71.

COTON, E.; LEGUERINEL, I. - Effects of pH. In **Encyclopedia of Food Microbiology**. 2nd. ed. London: Academic Press, 2014. ISBN 9780123847331. Vol. 1. p. 577 – 586.

EARLE, M.; EARLE, R.; ANDERSON, A. - **Food product development**. 1st. ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2001. ISBN 0849312094.

EMBUSCADO, M. E. - Spices and herbs: Natural sources of antioxidants - A mini review. **Journal of Functional Foods**. Vol. 18 (2015) p. 811–819.

FANTE, L.; PELAYO, C.; NOREÑA, Z. - Enzyme inactivation kinetics and colour changes in Garlic (*Allium sativum* L.) blanched under different conditions. **Journal of Food Engineering**. Vol. 108 (2012) p. 436–443.

FAO - **FAOSTAT** [Em linha] [Consult. 10 nov. 2016]. Disponível em WWW:URL: <http://www.fao.org/faostat/en/?#data>.

FARKAS, J.; FARKAS-MOHÁCSI, C. - Safety of Food and Beverages: Spices and Seasonings. In **Encyclopedia of Food Safety**. 1st. ed. Michigan: Elsevier Inc., 2014. ISBN 9780123786128. Vol. 3. p. 324–330.

FEINER, G. - Fermented Salami: Non–Heat Treated. In **Salami**. 1st. ed. London: Academic Press, 2016. ISBN 9780128095980. p. 111–176.

FOOD ADMINISTRATION - **Microbiological reference criteria for food**. [Em linha] [Consult. 02 out. 2017]. Disponível em WWW:URL: http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/Microbiological_Reference-Guide_Assess.pdf

FOOD STANDARDS AUSTRALIA NEW ZEALAND - **Compendium of Microbiological Criteria for Food**. ISBN 9780642345943 (2016) p. 1-50.

GUILDAS, M. - The determination of ascorbic acid, chlorophyll and pectin contents of turkish kiwifruit. **Journal of food quality**. Vol. 26 (2003) p. 353–358.

HAMMAMI, W; FIORI, S.; AL THANI, R.; ALI KALI, N.; BALMAS, V.; MIGHELI, Q.; JAOUA, S. - Fungal and aflatoxin contamination of marketed spices. **Food Control**. Vol. 37, nº1 (2014) p. 177–181.

HASHEM, M.; ALAMRI, S. - Contamination of common spices in Saudi Arabia markets with potential mycotoxin-producing fungi. **Saudi Journal of Biological Sciences**. Vol.17, nº2 (2010), p. 167–175.

HOUGH, G. - Workshop summary: Sensory shelf-life testing. **Food Quality and Preference**. Vol.17 (2006) p. 640–645.

ICMSF - Spices, dry soups, and oriental flavorings. In **Microrganisms in Foods 6**. 2nd. Ed. New York: Kluwer Academic, 2005. ISBN 9780387288017. p. 360–372

IFS - **IFS Food Version 6** - Standard for auditing quality and food safety of food products. (2014).

IFS - **IFS Standards** [Em linha] [Consult. 5 mai. 2017]. Disponível em WWW:<URL: <https://www.ifs-certification.com/index.php/en/standards>>.

IFS - **IFS Food** [Em linha] [Consult. 6 mai. 2017]. Disponível em WWW:<URL: <https://www.ifs-certification.com/index.php/en/standards/251-ifs-food-en>>.

JAGELLA, T.; GROSCH, W. - Flavour and off-flavour compounds of black and white pepper (*Piper nigrum* L.). **European Food Research and Technology**. Vol. 209, nº1 (1999) p. 16–21.

KONG, F.; SINGH, R. P. - Chemical Deterioration and Physical Instability of Foods and Beverages. In **The Stability and Shelf Life of Food**. 2nd. Ed. Cambridge: Woodhead Publishing, 2016. ISBN 9780081004357. p. 43–76.

LEDESMA, E.; RENDUELES, M.; DÍAZ, M. - Smoked Food. In **Current developments in Biotechnology and Bioengineering: Food and Beverages Industry**. 1st. ed. Cambridge: Elsevier B.V., 2017. ISBN 9780444636669. p. 201–243.

LEE, S. H.; LABUZA, T. P. - Destruction of Ascorbic Acid As a Function of Water Activity. **Journal of Food Science**. Vol. 40 (1975) p. 370–373.

LEROY, F.; VUYST, L. DE - Fermented foods: fermented meat products. In **Encyclopedia of Food and Health**. 1st. ed. Oxford: Academic Press, 2016. ISBN 978012-3849472. p. 656–660

MAN, C. M. D. - Shelf-life testing. In **Understanding and measuring the shelf-life of food**. 1st. ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited 2004. ISBN 9781855737327. p. 340–354.

MANGKOLTRILUK, W.; SRZEDNICKI, G.; CRASKE, J. - Preservation of flavour components in parsley (*Petroselinum crispum*) by heat pump and cabinet drying. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**. Vol.14, n°1, (2005) p. 63–66.

MILLS, E. - Additives. In **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2nd. Ed. London: Academic Press, 2014. ISBN 9780123847348. p. 1–5.

NARASIMHAN, S.; CHAND, N.; RAJALAKSHMI, D.; INDIRAMMA, A. R. - Quality of powdered black pepper (*Piper nigrum* L.) During storage. I. Sensory and physicochemical analyses. **Journal of sensory studies**. Vol. 4 (1990). p. 229–240.

NEW ZEALAND FOOD SAFETY AUTHORITY - **A Guide to Calculating the Shelf Life of Foods** [Em linha]. Wellington. [Consult. 5 out. 2016]. Disponível em WWW:URL: [http://blpd.dss.go.th/micro/A Guide to Calculating the Shelf Life of Foods - New Zealand.pdf](http://blpd.dss.go.th/micro/A%20Guide%20to%20Calculating%20the%20Shelf%20Life%20of%20Foods%20-%20New%20Zealand.pdf).

OCKERMAN, H. W.; BASU, L.- Production and consumption of fermented meat products. In **Handbook of Fermented Meat and Poultry**. 2nd. ed. Oxford: John Wiley & Sons, Ltd, 2015. ISBN 9781118522691. p. 7–11.

OCKERMAN, H.; BASU, L. - Spices and Flavorings. In **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2nd. ed. London: Academic Press, 2014. ISBN 9780123847317. p.302–306.

OYETADE, O. A.; OYELEKE, G. O.; ADEGOKE, B. M.; AKINTUNDE, A. O. - Stability Studies on Ascorbic Acid (Vitamin C) From Different Sources. **Journal of Applied Chemistry**. Vol. 2, n°4 (2012). p. 20–24.

PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; WELTI-CHANES, J.; SWANSON, B. G. - Polyphenoloxidase Activity and Color of Blanched and High Hydrostatic. **Journal of Food Science**. Vol.64, nº1 (1999). p. 42–45.

PAREJO, I.; CODINA, C.; PETRAKIS, C.; KEFALAS, P. - Evaluation of scavenging activity assessed by Co (II)/ EDTA-induced luminol chemiluminescence and DPPH free radical assay. **Journal of pharmacological and toxicological methods**. Vol. 44 (2001). p. 507–512.

PARLAMENTO EUROPEU - **DIRECTIVA 2000/13/CE DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO de 20 de Março de 2000 relativa à aproximação das legislações dos Estados-Membros respeitantes à rotulagem, apresentação e publicidade dos géneros alimentícios** [Em linha]. Europa. [Consult. 1 jan. 2017]. Disponível em WWW:URL: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=celex%3A32000L0013>.

PARLAMENTO EUROPEU - **REGULAMENTO (CE) N.º 1334/2008 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO de 16 de Dezembro de 2008** [Em linha]. Europa. [Consult. 4 jan. 2017]. Disponível em WWW:URL:<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=celex%3A32008R1334>.

PARLAMENTO EUROPEU - **REGULAMENTO (CE) N.º 1333/2008 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO de 16 de Dezembro de 2008 relativo aos aditivos alimentares** [Em linha]. Europa. [Consult. 10 nov. 2016]. Disponível em WWW: URL:<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/ALL/?uri=celex:32008R1333>.

PETER, K. V.; SHYLAJA, M. R. - Introduction to herbs and spices: definitions, trade and applications. In **Handbook of herbs and spices**. 2nd ed. Cambridge: Woodhead Publishing, 2012. ISBN 9780857090393. p. 1–19.

PETROPOULOS, S. A.; DAFERERA, D.; POLISSIOU, G; PASSAM, H. C - Effect of freezing, drying and the duration of storage on the composition of essential oils of plain-leaved parsley [*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym. ssp. neapolitanum Danert] and turnip-

rooted parsley [*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym. ssp.] **Flavour and Frangance Journal**. Vol. 25, n°1 (2010). p. 28–34.

PRABHAKAR, K.; MALLIKA, E. N. - Water Activity. In **Encyclopedia of Food Microbiology**. 2nd. ed. London: Academic Press, 2014. ISBN 97801-3847331. Vol. 3, p. 751 – 754.

RAVINDRAN, P. N.; KALLUPURACKAL, J. A. - Black pepper. In **Handbook of herbs and spices**. 2nd ed. Cambridge: Woodhead Publishing, 2012. ISBN 9780857090393. p. 86–115.

ROGERS, L. L. - Using sensory techniques for shelf-life assessment. In **Sensory Analysis for Food and Beverage Quality Control**. 1st ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2010. ISBN 9781845694760. p. 143-145.

ROGERS, L. L. - Sensory methods for quality control. In **Sensory analysis for food and beverage quality control**. 1st. ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2010. ISBN 978184569476-0. p. 51–74.

ROSS, T.; NICHOLS, D. S. - Influence of Temperature. In **Encyclopedia of Food Microbiology**. 2nd. Ed. London: Academic Press, 2014. ISBN 9780123847331. Vol.1, p. 602 – 609.

ROSS, T.; NICHOLS, D. S. - Influence of Available Water. In **Encyclopedia of Food Microbiology**. 2nd. Ed. London: Academic Press, 2014. ISBN 9780123847331. Vol.1, p. 587 – 594.

RUIZ, B. G.; ROUX, S.; COURTOIS, F.; BONAZZI, C.- Spectrophotometric method for fast quantification of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in simple matrix for kinetics measurements. **Food Chemistry**. Vol. 211 (2016). p. 583–589.

SABLANI, S. S; AL-BELUSHI, K.; AL-MARHUBI, I.; AL-BELUSHI, R. - Evaluating Stability of Vitamin C in Fortified Formula Using Water Activity and Glass Transition. **International Journal of Food Properties**. Vol.10, n°1 (2007) p. 61–71.

SALTMARSH, M. - E Numbers. In **Essential Guide to Food Additives**. 4th. ed. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2013. ISBN 9781849735605. p. 91–276.

SALTMARSH, M.; INSALL, L. - Food Additives and Why They Are Used. In **Essential Guide to Food Additives**. 4th. ed. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2013. ISBN 9781849735605. p. 1–13.

SASIDHARAN, I.; MENON, A. N. - Comparative chemical composition and antimicrobial activity of berry and leaf essential oils of piper nigrum l. **International Journal of Biological & Medical Research**. Vol.3, n°4 (2010). p. 215–218.

SCHAARSCHMIDT, S.; SPRADAU, F.; MANK, H.; BANACH, J. L.; VAN DER FELS-KLERX, H. J.; HILLER, P.; APPEL, B.; BRÄUNIG, J.; WICHMANN-SCHAUER, H.; MADER, A. - Public and private standards for dried culinary herbs and spices - Part II: Production and product standards for ensuring microbiological safety. **Food Control**. Vol.70 (2016). p. 360–370.

SCHAARSCHMIDT, S. - Public and private standards for dried culinary herbs and spices- Part I: Standards defining the physical and chemical product quality and safety. **Food Control**. Vol.70 (2016). p. 339–349.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. - Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion. **European Journal of Lipid Science and Technology**. Vol. 112, n°9 (2010). p. 930–940.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. - Lipid oxidation and improving the oxidative stability. **Chemical Society reviews**. Vol.39, n°11 (2010) p.4067–4079.

SHEPHARD, A. B.; NICHOLS, S. C.; BRAITHWAITE, A. - Moisture induced solid phase degradation of L-ascorbic acid part 1: A kinetic study using tristimulus colorimetry and a quantitative HPLC assay. **Talanta**.. Vol.48, n°3, (1999). p. 585–593.

SIKORSKI, Z. E.; SINKIEWICZ, I. - Principles of Smoking. In **Handbook of Fermented Meat and Poultry**. 2nd. ed. Oxford: John Wiley & Sons, Ltd, 2015. ISBN 9781118522691. p. 39–45.

SINGH, R. P.; ANDERSON, B. A. - The major types of food spoilage: an overview. In **Understanding and measuring the shelf-life of food**. 1st. ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2004. ISBN 9781855737327. p. 3–23.

STONE, H. - Alternative methods of sensory testing: advantages and disadvantages. In **Rapid Sensory Profiling Techniques and Related Methods**. 1st. ed. Cambridge: Woodhead Publishing, 2015. ISBN 9781782422488. p. 27–51.

TOLDRÁ, F. - Principles of dry-fermented sausage making. In **Dry-cured Meat Products**. 1st. ed. Connecticut: Food and Nutrition Press, Inc, 2002. ISBN 0917678540. p. 63–86.

TOLDRÁ, F. - Fermentation and starter cultures. In **Dry-cured Meat Products**. 1st. ed. Connecticut: Food and Nutrition Press, Inc, 2002. ISBN 0917678540. p. 89–109.

TOLDRÁ, F.; HUI, Y. H. - Dry-fermented sausages and ripened meats: An overview. In **Handbook of Fermented Meat and Poultry**. 2nd. ed. Oxford: John Wiley & Sons, Ltd, 2015. ISBN 9781118522691. p. 3–6.

WITKOWSKA, A. M.; HICKEY, D. K.; ALONSO-GOMEZ, M.; WILKINSON, M. G. - The microbiological quality of commercial herb and spice preparations used in the formulation of a chicken supreme ready meal and microbial survival following a simulated industrial heating process. **Food Control**. Vol.22, n°3 (2011). p. 616–625.

ZACHARIAH, T. J.; GOBINATH, P. - Paprika and Chilli. In **Chemistry of Spices**. 1st. ed. UK: CAB International, 2008. ISBN 9781845934200. p. 260–286.

ZACHARIAH, T. J.; PARTHASARATHY, V. A. - Black Pepper. 1st. ed. In **Chemistry of Spices**. UK: CAB International, 2008. ISBN 9781845934200. p. 21–40.

ZHANG, H.; CHEN, F.; WANG, X.; YAO, H.- Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. **Food Research International**. Vol. 39 (2006). p.833–839.

ZHANG, H.; KONG, B.; XIONG, Y. L.; SUN, X.- Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4 °C. **Meat Science**. vol.81, n° 4 (2009) p. 686–692.

IV – ANEXOS

ANEXO I – Ficha de prova de análise sensorial de teste de comparação simples

Ficha de prova – teste simples de comparação

Género: _____ **Idade:** _____
Data: _____ **Local:** _____

Instruções:

- Existem duas amostras para avaliar.
- Por favor avalie o cheiro das amostras na ordem apresentada abaixo.

Na sua opinião, as amostras são iguais ou diferentes? Selecione com uma cruz a sua resposta.

256 e 897 Iguais ☐ Diferentes ☐

Figura 68 – Exemplo de ficha de prova fornecido ao painel de provadores no teste de comparação simples.

ANEXO II –Humidade e temperatura exteriores vs. interiores

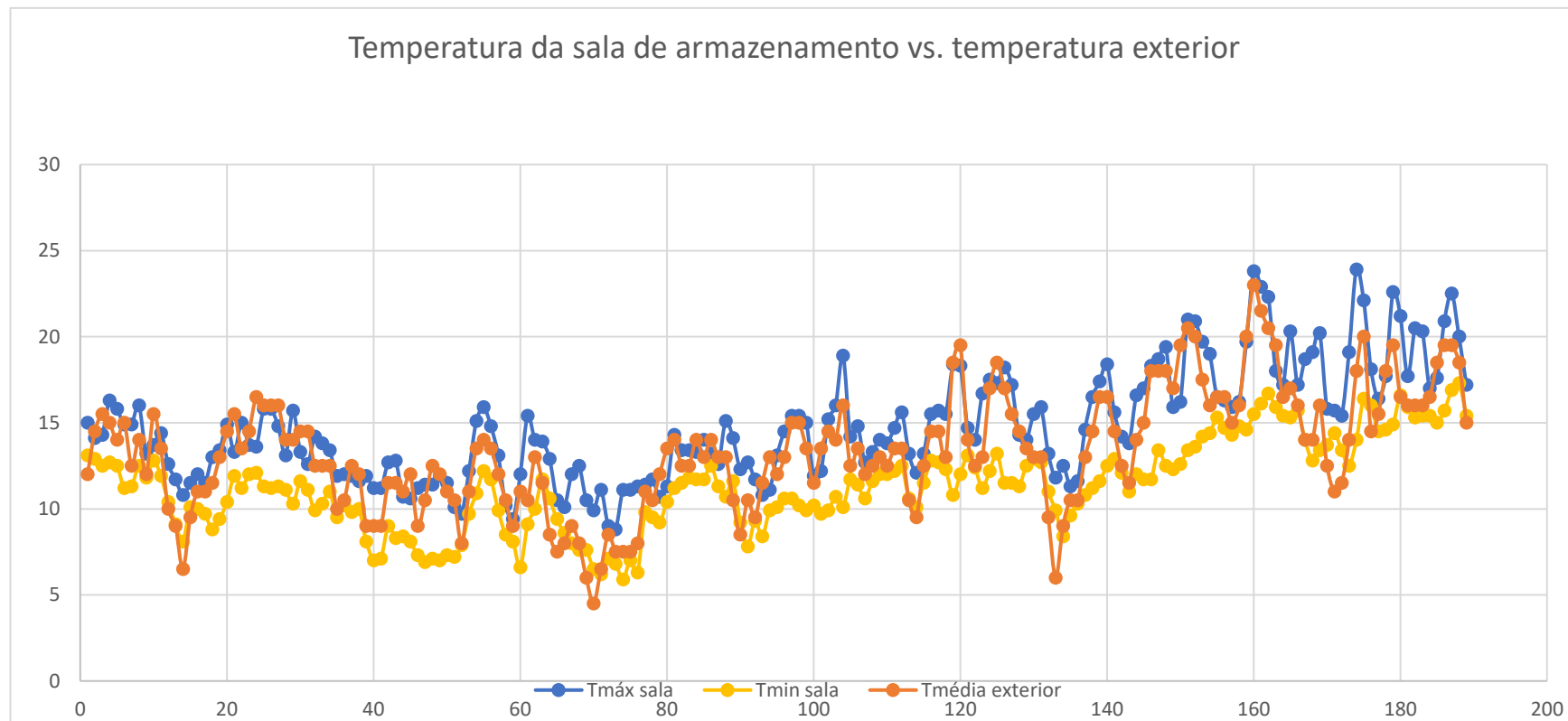


Figura 69 – Temperatura máxima e mínima da sala de armazenamento e temperatura média do exterior, ao longo do tempo de estudo.

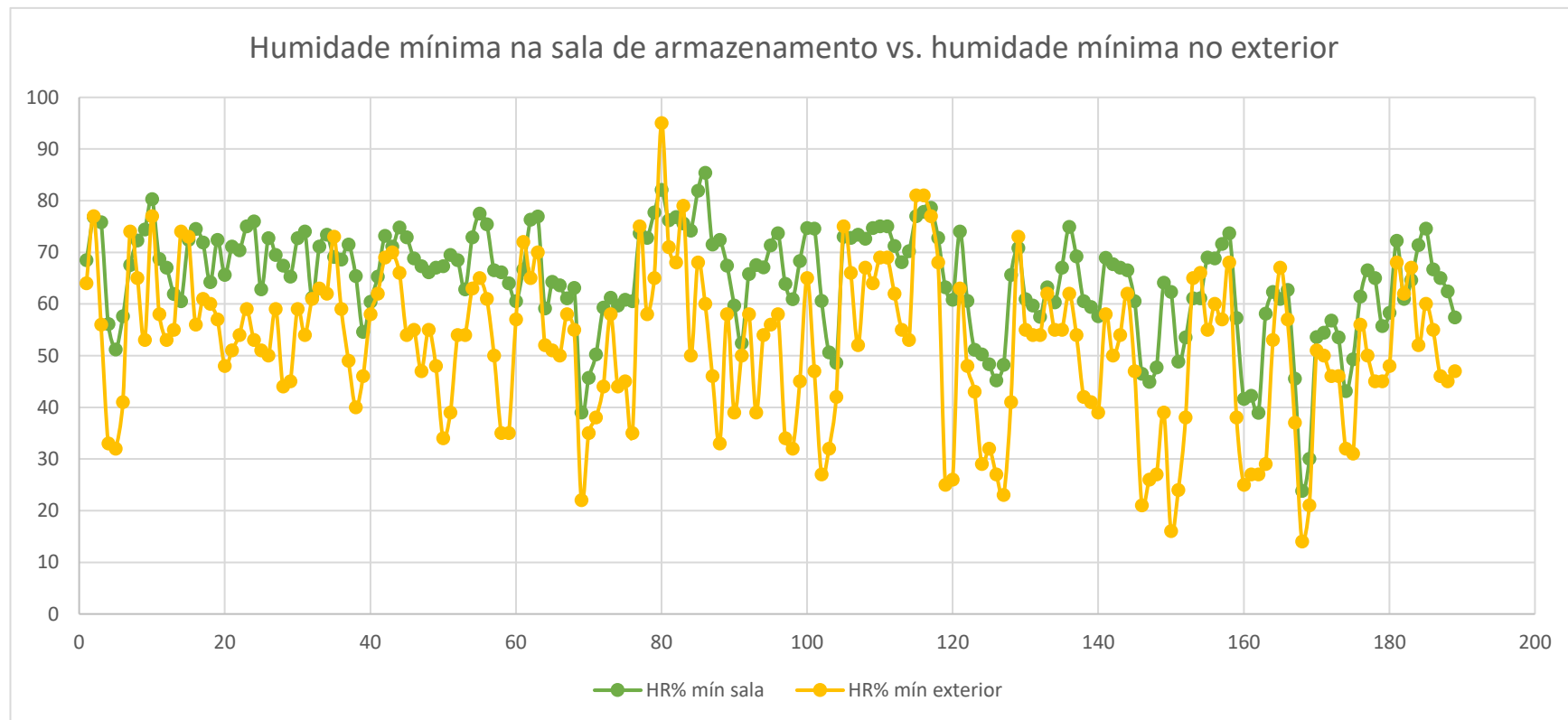


Figura 70 – Humidade mínima da sala de armazenamento e humidade mínima do exterior, ao longo do tempo de estudo.

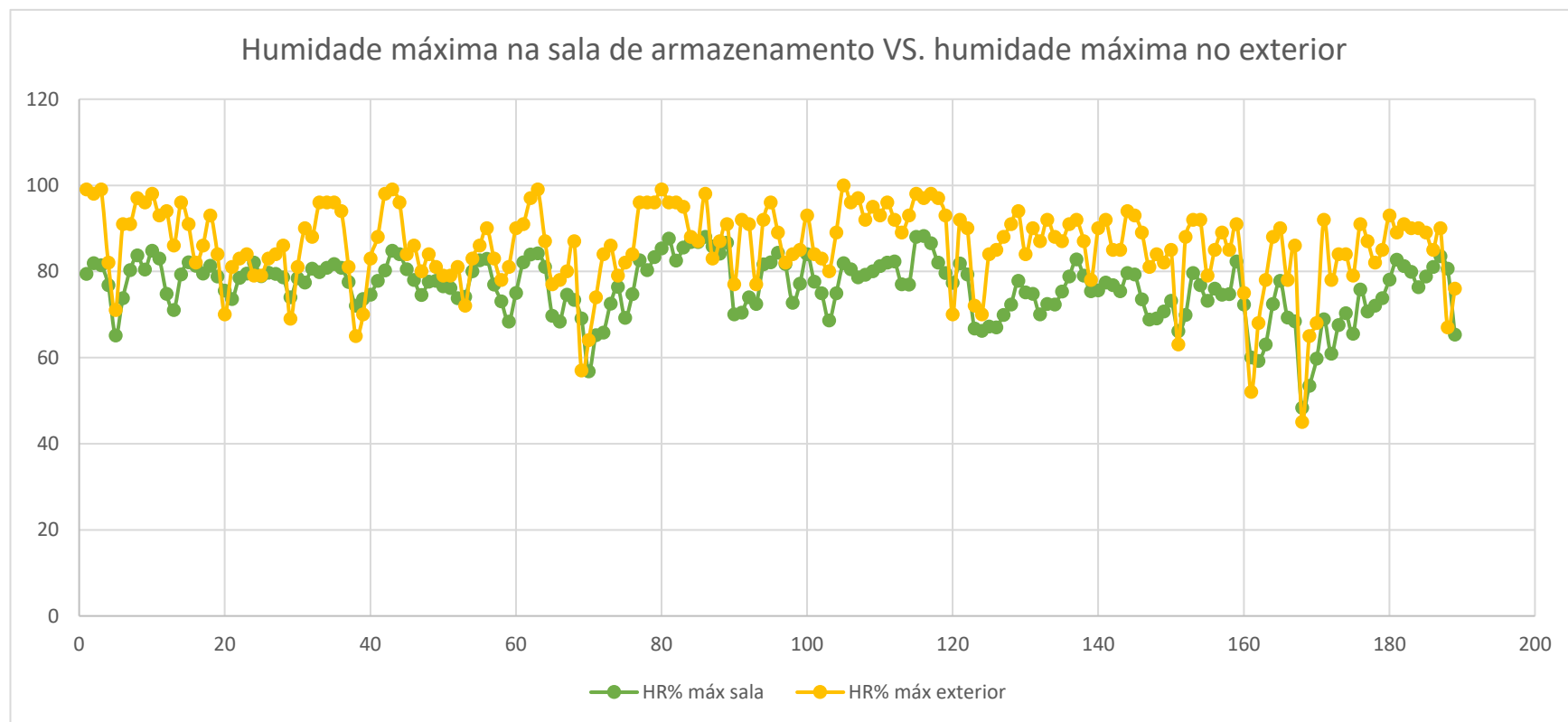


Figura 71 – Humidade máxima da sala de armazenamento e humidade máxima do exterior, ao longo do tempo de estudo.

ANEXO III – Critérios microbiológicos de especiarias

Tabela 22 – Critérios microbiológicos segundo a recomendação da comissão europeia e outra bibliografia existente.

Critério	Recomendação 2004/24/CE (Comissão Europeia, 2004)	Outra bibliografia (Food Administration, 1995; Food Standards Australia New Zealand, 2016)
Enterobactérias	1 a 2 log ₁₀ ufc/g	2 a 4 log ₁₀ ufc/g
Microorganismos a 30 °C	-	5,7 a 6,7 log ₁₀ ufc/g
<i>Bacillus cereus</i>	3 a 4 log ₁₀ ufc/g	3 a 4 log ₁₀ ufc/g
<i>Clostridium perfringens</i>	2 a 3 log ₁₀ ufc/g	2 a 3 log ₁₀ ufc/g
<i>Escherichia coli</i>	-	2 log ₁₀ ufc/g
<i>Staphylococcus coagulase +</i>	-	2 a 3 log ₁₀ ufc/g
<i>Salmonella</i> spp.	Ausente em 25 g	Ausente em 25 g

ANEXO IV – Resultados de colorimetria – L*a*b* e BI



Figura 72 – Evolução do parâmetro L* ao longo do tempo, para o produto *Mix para afiambrados*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

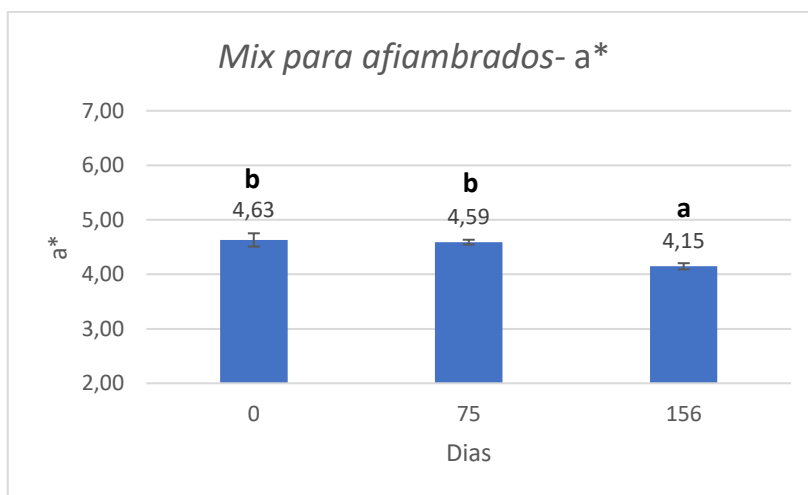


Figura 73 – Evolução do parâmetro a* ao longo do tempo, para o produto *Mix para afiambrados*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

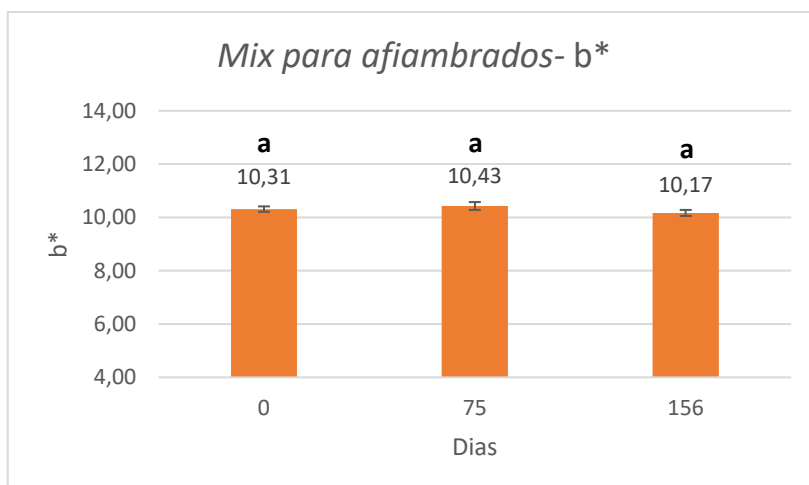


Figura 74 – Evolução do parâmetro b* ao longo do tempo, para o produto *Mix para afiambrados*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

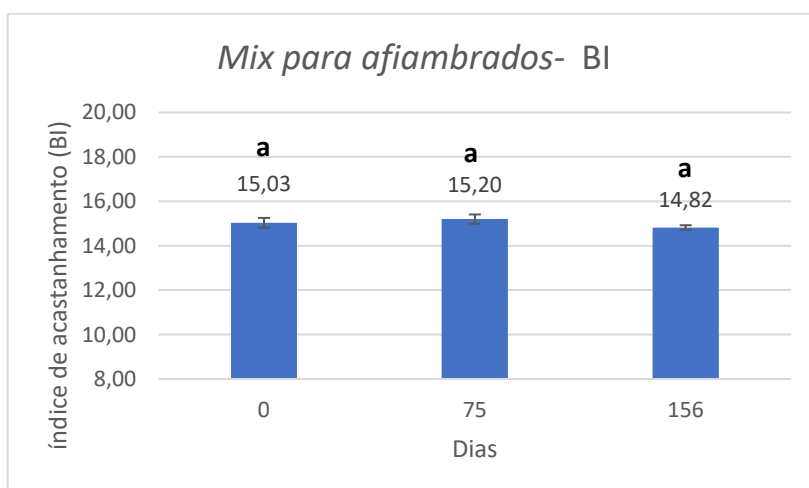


Figura 75 – Evolução do parâmetro BI ao longo do tempo, para o produto *Mix para afiambrados*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

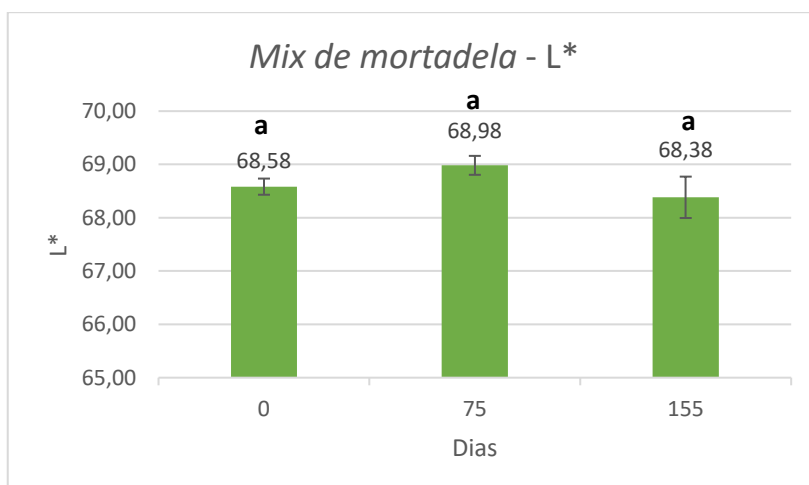


Figura 76 – Evolução do parâmetro L* ao longo do tempo, para o produto *Mix de mortadela*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

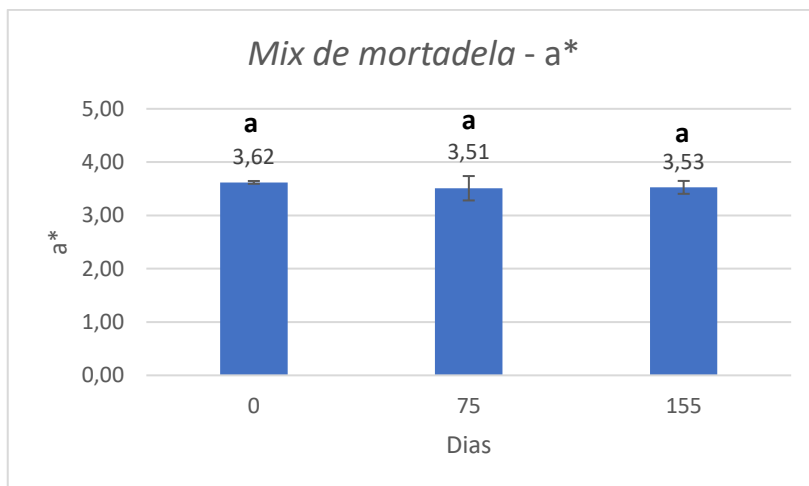


Figura 77 – Evolução do parâmetro a* ao longo do tempo, para o produto *Mix de mortadela*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

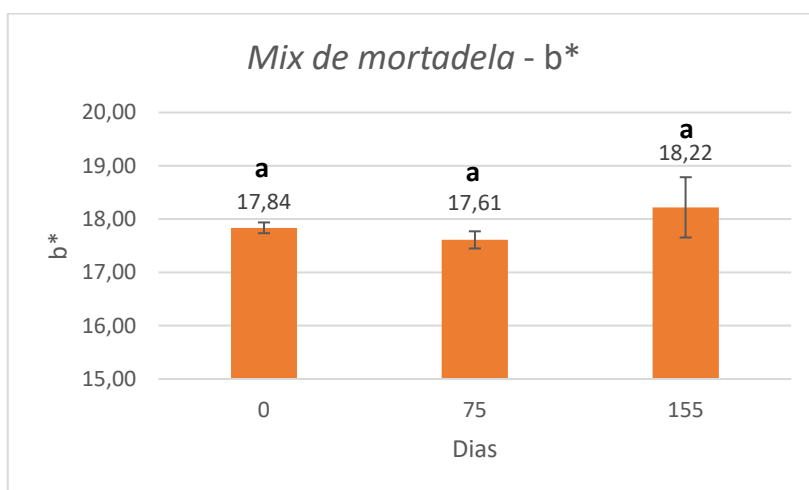


Figura 78 – Evolução do parâmetro b* ao longo do tempo, para o produto *Mix de mortadela*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

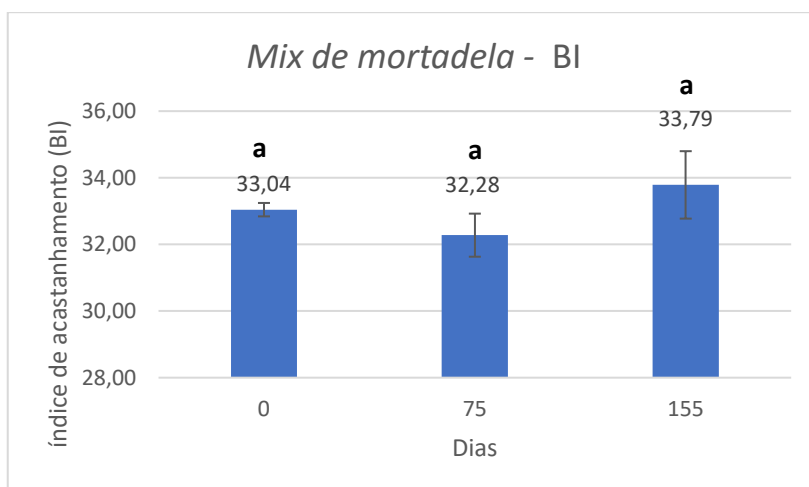


Figura 79 – Evolução do parâmetro BI ao longo do tempo, para o produto *Mix de mortadela*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

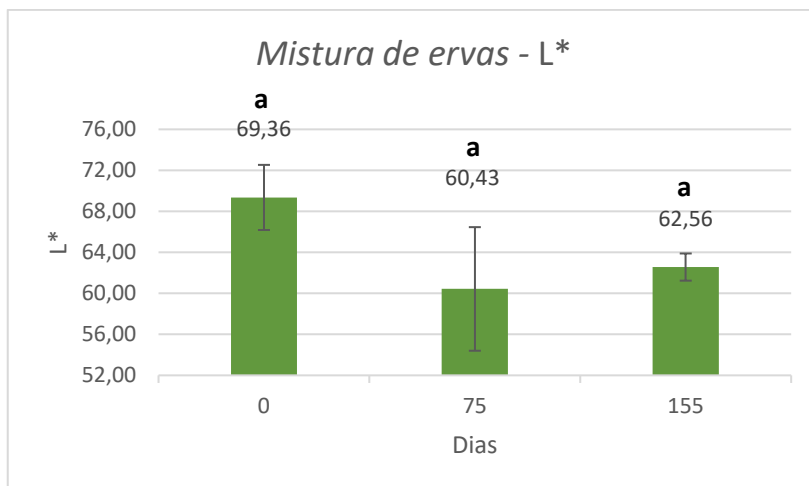


Figura 80 – Evolução do parâmetro L* ao longo do tempo, para o produto *Mistura de ervas*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

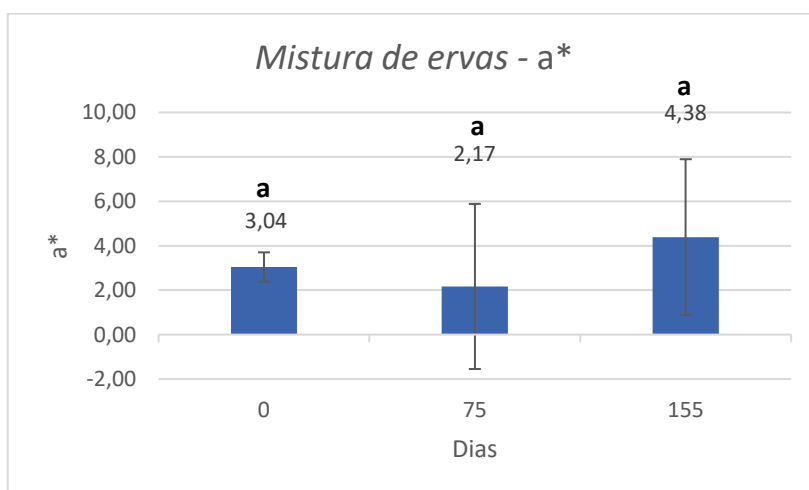


Figura 81 – Evolução do parâmetro a* ao longo do tempo, para o produto *Mistura de ervas*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

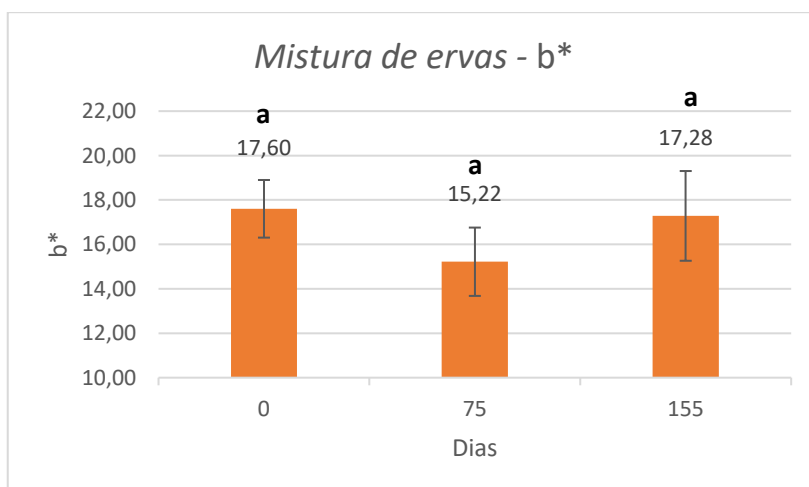


Figura 82 – Evolução do parâmetro b* ao longo do tempo, para o produto *Mistura de ervas*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

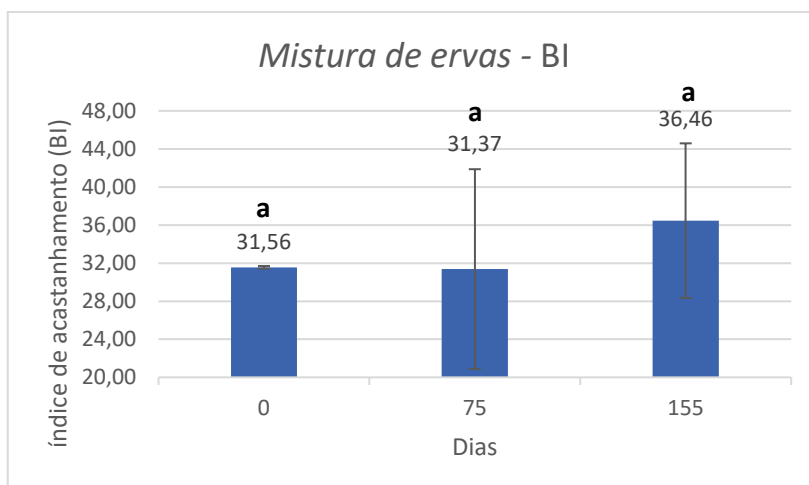


Figura 83 – Evolução do parâmetro BI ao longo do tempo, para o produto *Mistura de ervas*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

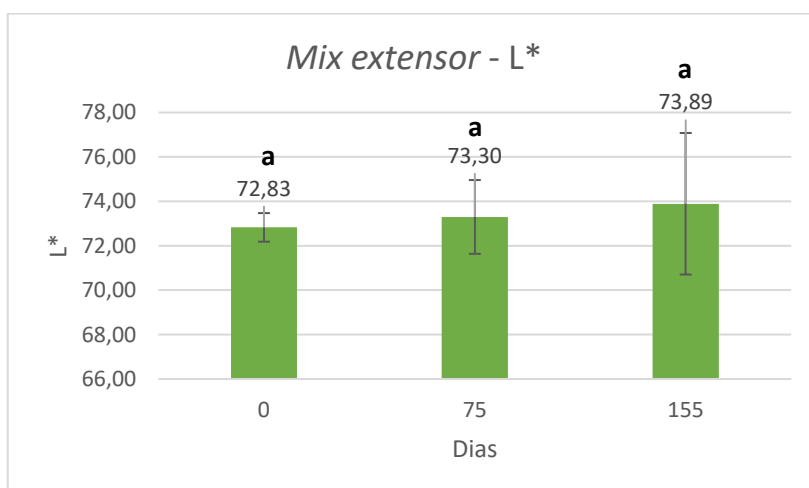


Figura 84 – Evolução do parâmetro L* ao longo do tempo, para o produto *Mix extensor*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

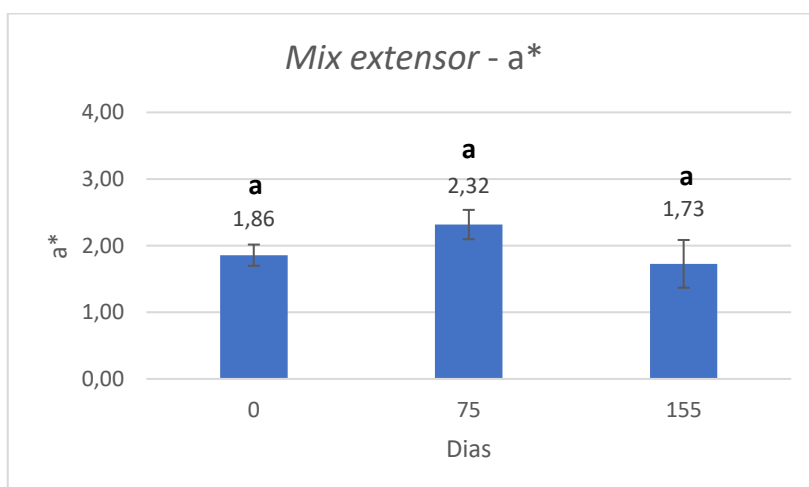


Figura 85 – Evolução do parâmetro a* ao longo do tempo, para o produto *Mix extensor*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

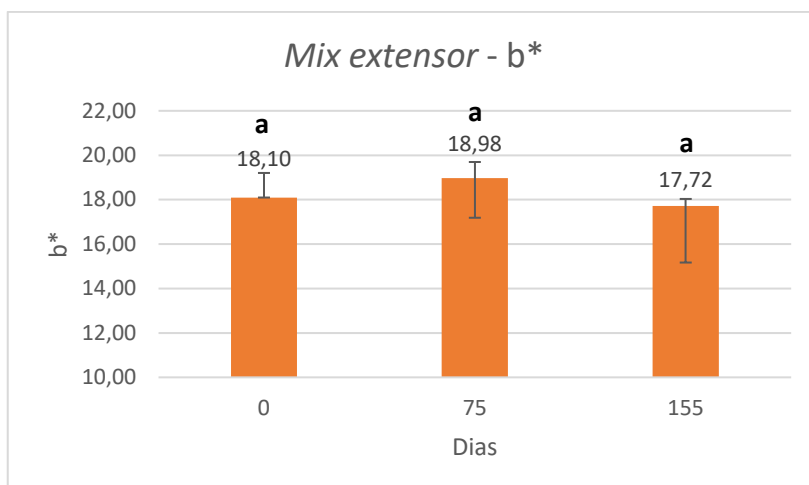


Figura 86 – Evolução do parâmetro b* ao longo do tempo, para o produto *Mix extensor*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

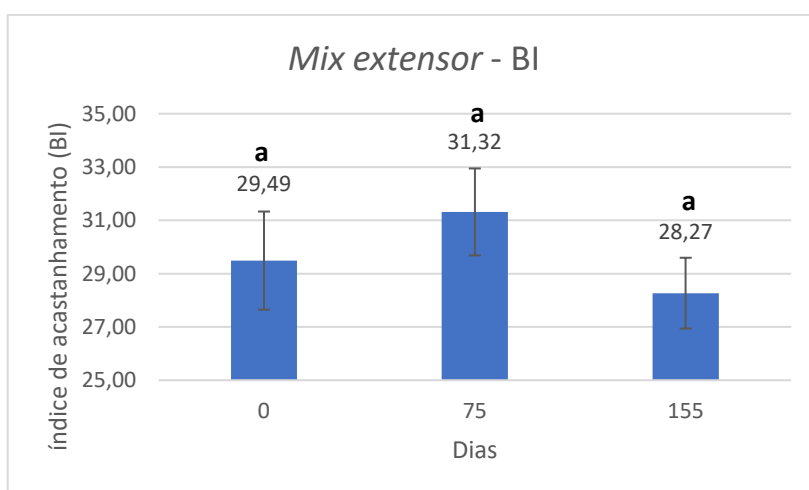


Figura 87 – Evolução do parâmetro BI ao longo do tempo, para o produto *Mix extensor*. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

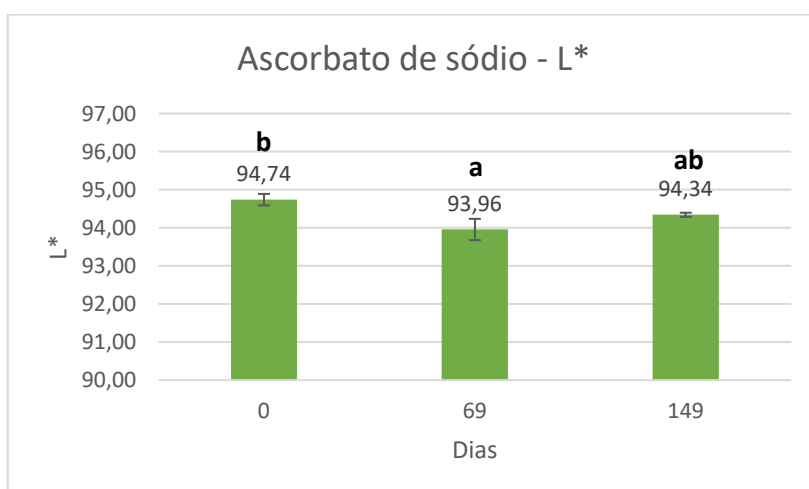


Figura 88 – Evolução do parâmetro L* ao longo do tempo, para o produto ascorbato de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

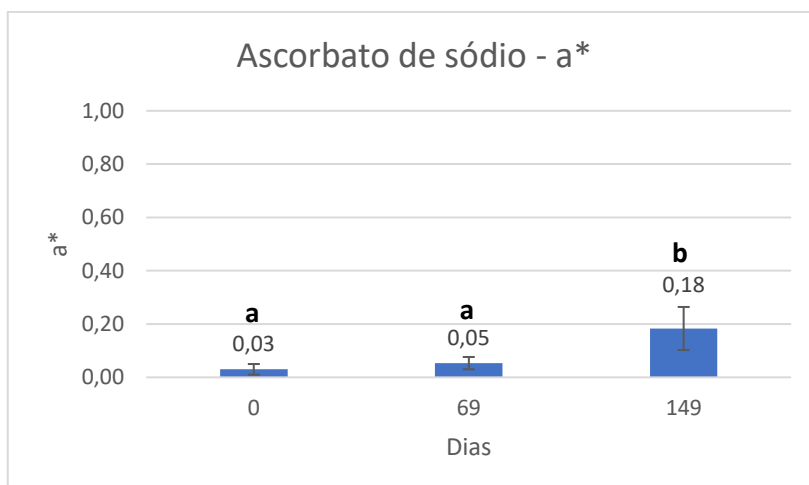


Figura 89 – Evolução do parâmetro a* ao longo do tempo, para o produto ascorbato de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

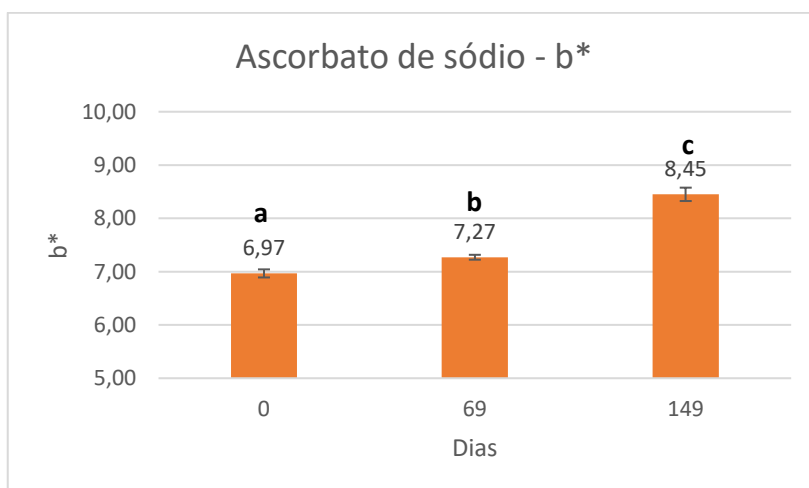


Figura 90 – Evolução do parâmetro b* ao longo do tempo, para o produto ascorbato de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

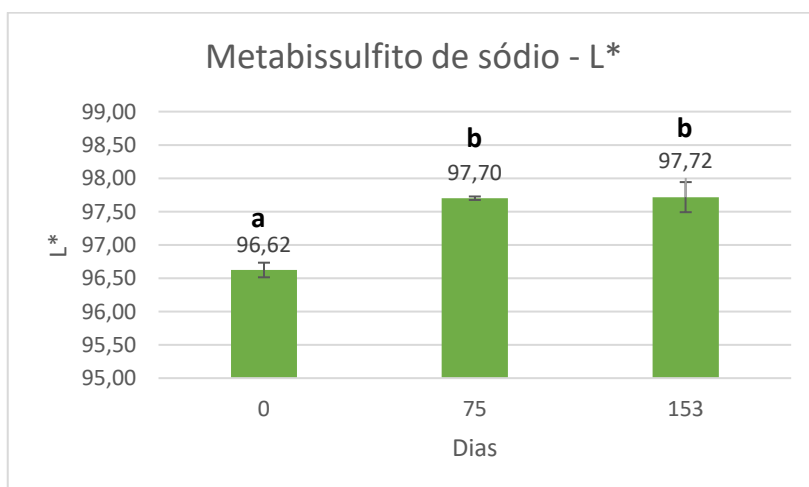


Figura 91 – Evolução do parâmetro L* ao longo do tempo, para o produto metabissulfito de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

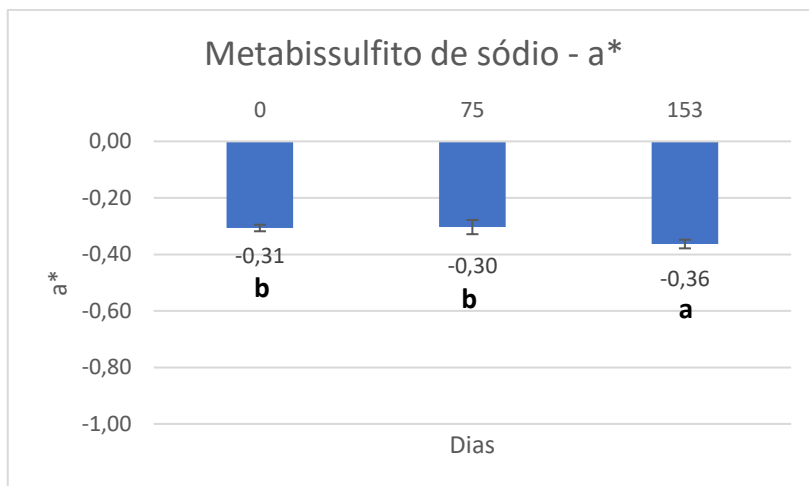


Figura 92 – Evolução do parâmetro a* ao longo do tempo, para o produto metabissulfito de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

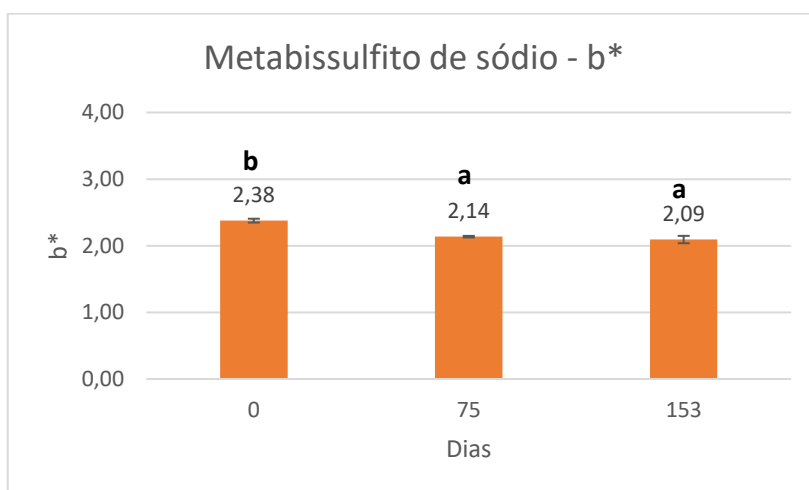


Figura 93 – Evolução do parâmetro b* ao longo do tempo, para o produto metabissulfito de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

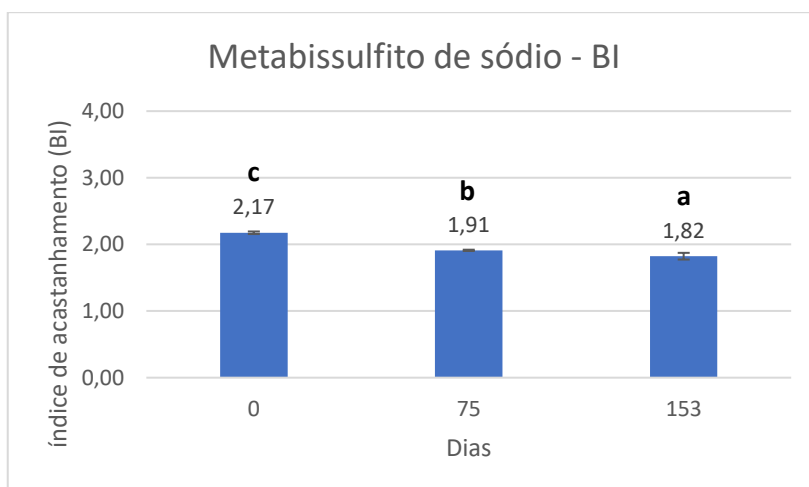


Figura 94 – Evolução do parâmetro BI ao longo do tempo, para o produto metabissulfito de sódio. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

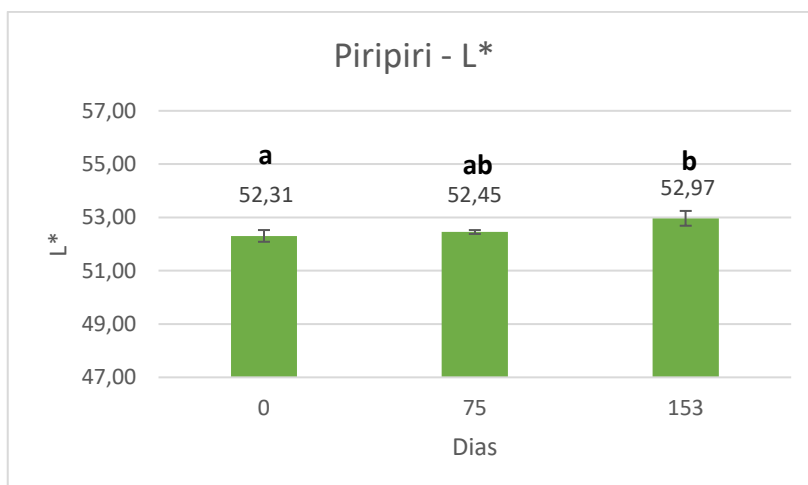


Figura 95 – Evolução do parâmetro L* ao longo do tempo, para o produto piripiri. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

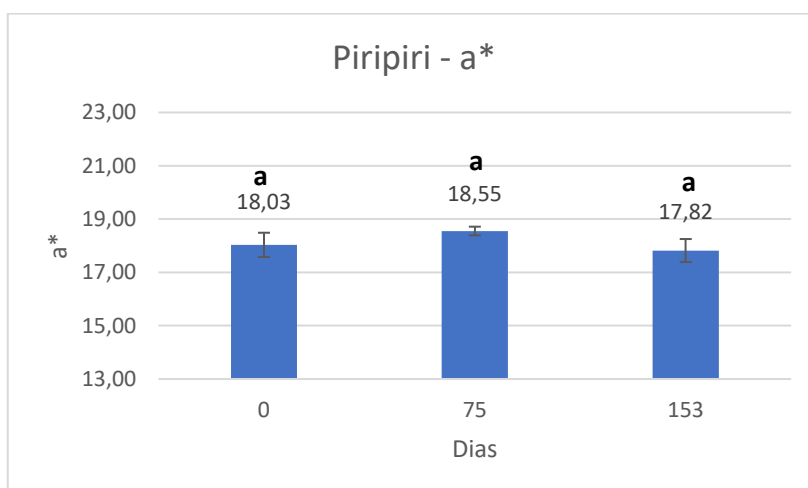


Figura 96 – Evolução do parâmetro a* ao longo do tempo, para o produto piripiri. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

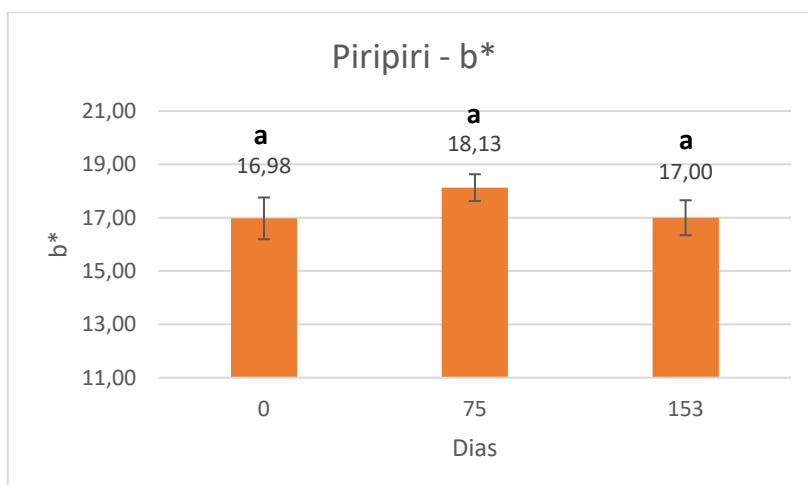


Figura 97 – Evolução do parâmetro b* ao longo do tempo, para o produto piripiri. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

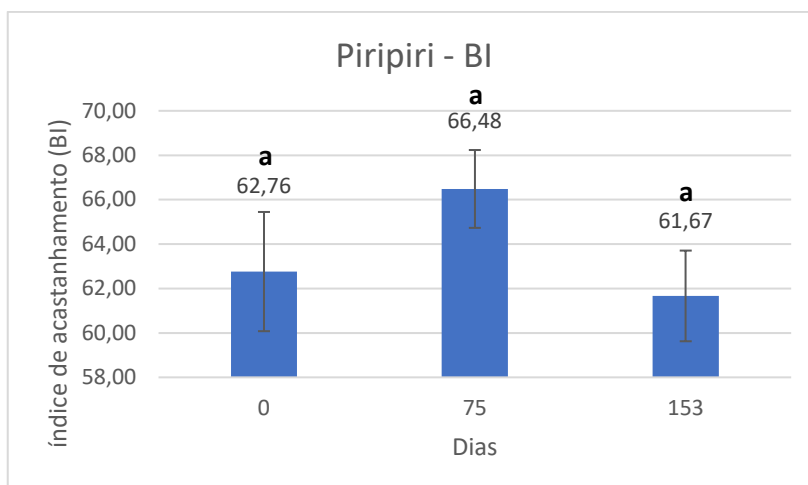


Figura 98 – Evolução do parâmetro BI ao longo do tempo, para o produto piripiri. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

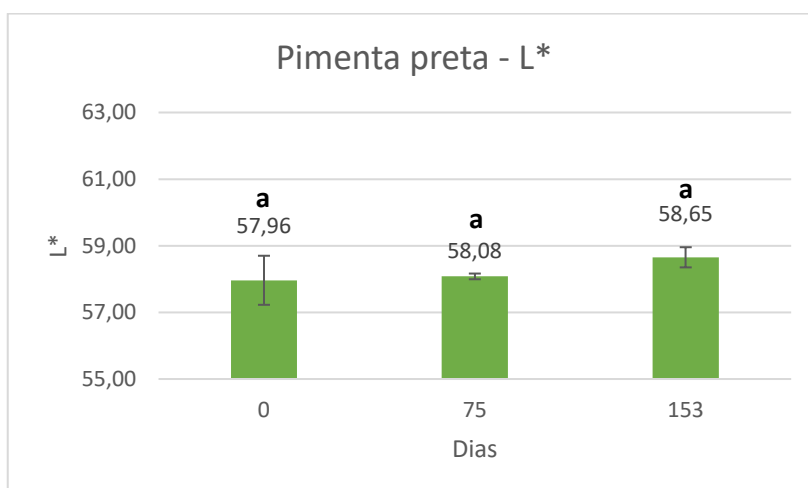


Figura 99 – Evolução do parâmetro L* ao longo do tempo, para o produto pimenta preta. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

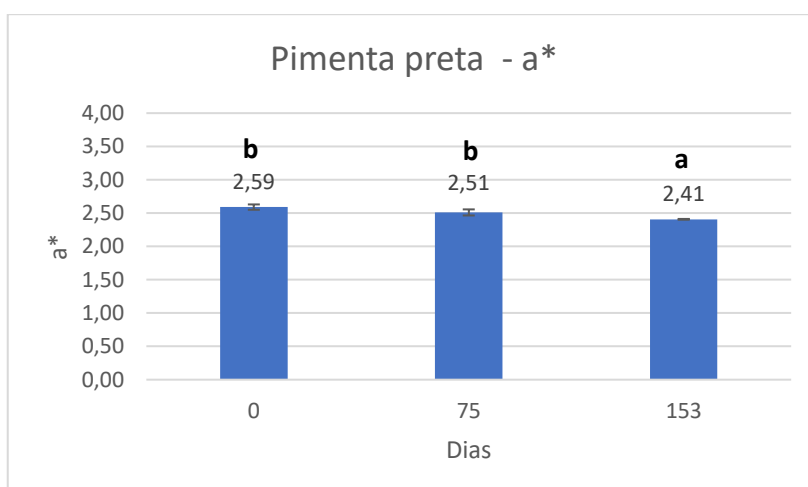


Figura 100 – Evolução do parâmetro a* ao longo do tempo, para o produto pimenta preta. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

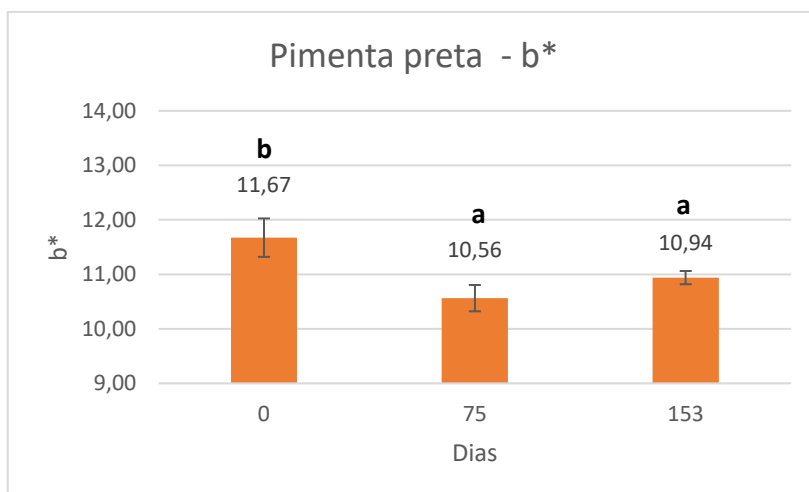


Figura 101 – Evolução do parâmetro b* ao longo do tempo, para o produto pimenta preta. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

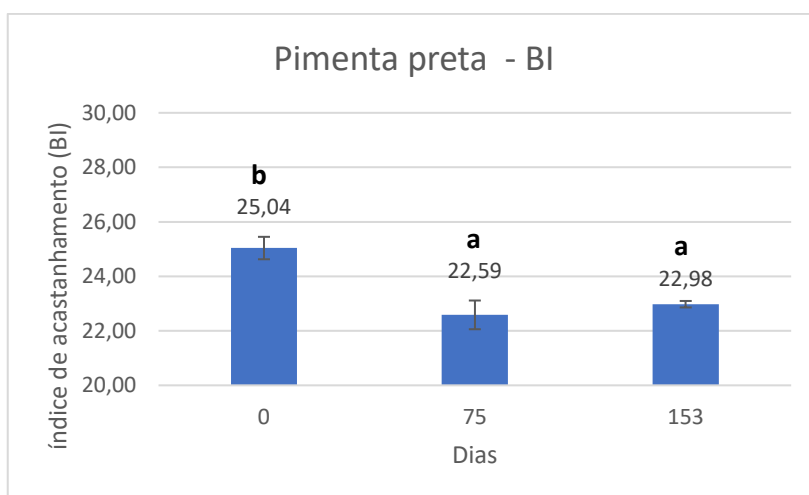


Figura 102 – Evolução do parâmetro BI ao longo do tempo, para o produto pimenta preta. As diferentes letras indicam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

ANEXO V – Fichas de prova do desenvolvimento de novos produtos

Ficha de prova ao consumidor

Género: _____ **Idade:** _____

Data: _____ **Local:** _____

	Detesto				Gosto muito
Cor:	1	2	3	4	5
Odor:	1	2	3	4	5
Sabor:	1	2	3	4	5
Textura:	1	2	3	4	5
Apreciação Global	1	2	3	4	5

Porquê?

Ficha de prova descritiva de Salame

Nome do provador: _____

Data: _____

Cor

Cor característica ☐

Cor não característica:

Castanho ☐

Rosado ☐

Outro (Qual?): _____

Consistência aparente

Húmido

Seco

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

Mole

Duro

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

Odor

Odor característico ☐

Intensidade do odor característico:

Pouco intenso

Muito intenso

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

Odor deteriorado:

Odor a mofo ☐

Outro (Qual?): _____

Consistência na boca

Húmido

Seco

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

Mole

Duro

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

Sabor

Pouco ácido

Muito ácido

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

Ficha de prova descritiva de *Chorizo* picante

Nome do provador: _____

Data: _____

Cor

Cor característica ☐

Cor não característica:

Castanho ☐

Outro (Qual?): _____

Consistência aparente

Húmido

Seco

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

Mole

Duro

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

Odor

Odor característico ☐

Intensidade do odor característico:

Pouco intenso

Muito intenso

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

Odor deteriorado:

Odor a mofo ☐

Outro (Qual?): _____

Consistência na boca

Húmido

Seco

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

Mole

Duro

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

Sabor

Pouco picante

Muito picante

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

Pouco ácido

Muito ácido

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

Pouco salgado

Muito salgado

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

Pouco gorduroso

Muito gorduroso

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

Pouco persistente na boca

Muito persistente na boca

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

Aroma

Aroma característico ☐

Aroma deteriorado:

Aroma a mofo ☐

Outro (Qual?): _____

Classificação global

1 Má	2 Medíocre	3 Aceitável	4 Boa	5 Muito Boa
---------	---------------	----------------	----------	----------------

Notas:

--